N° d'enregistrement
au C. N. R. S.

.....

THÈSE DE DOCTORAT ÈS SCIENCES NATURELLES

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

par

Monsieur Laurent CAUCHY

pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences

Recherches Virologiques, Expérimentales et Infrastructurales sur une Néoplasie : La Maladie de Marek

---

Soutenue le :
11 décembre 1970

Devant la Commission d'Examen :

MM. J.-A. THOMAS, Président
A. HOLLANDE, Examinateur
P. LEPINE Examinateur
P. MORNET Invité.

E R R A T A

p. 1 : - § B. Historique. 7ème ligne = Lire : FRITZSCHE.

p. 5 : - 6ème ligne = Lire : forme.
10ème ligne = Lire : ronds.
17ème ligne = Lire : allongés.
34ème ligne = Lire : caryorrhexis.
dernière ligne = Lire : axolemmes.

p. 6 : - 10ème ligne = Lire : axolemme.

p. 13 : - 1ère ligne = Lire : ci-dessous.

p. 14 : - 23ème ligne = Lire : la suspension.

p. 15 : - § 5, 5ème ligne = Lire : est réalisée.

p. 16 : - § D, 1°) 7ème ligne = Lire : renflement.
§ D, 1°) 10ème ligne = Lire : thoracique.).

p. 19 : - § 2°, 13ème ligne = Lire : acétate d'uranyle.
§ 2°, 20ème ligne = Lire : PHILIPS.
dernière ligne = 75 kV et 80 kV.

p. 24 : - dernière ligne = Lire : virus libérés.

p. 34 : - b) 1°, § 2, 5ème ligne = Lire : longtemps.

p. 39 : - b) 3ème ligne = Lire : (Planche V, figure 2).

p. 48 : - 8ème ligne = Lire : Ultra-sons.

p. 51 : - § 6, 2ème ligne = Lire : LUCAS (112).

p. 56 : - dernier §, 3ème ligne = Lire : SCHLIDOVSKY.
dernier §, 9ème ligne = Lire : tumoraux.

p. 63 : - § 2, 3ème ligne = Lire : être.

p. 73 : - (100) KAJIMA M., 1969, 7,12-dimethylbenz (a)anthracene-induced malignant lymphoma in Germfree mice. Adv.exp Med.Biol., 3, "Germfree Biology", E.A.Mirand, N.Bac ed., pp.153-161, New York, Plenum Press.

THESE DE DOCTORAT D'ETAT

ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES DE

P A R I S

par

Monsieur CAUCHY Laurent

pour obtenir le
grade de Docteur Es-Sciences

RECHERCHES VIROLOGIQUES, EXPERIMENTALES ET INFRASTRUCTURALES SUR UNE NEOPLASIE : LA MALADIE DE MAREK.

=====

Travail du Laboratoire de Biologie Cellulaire et
Centre de Physiologie cellulaire.Faculté des Sciences
(Paris VI), et de Station de Pathologie Aviaire, INRA,
Nouzilly - Tours.

Soutenue le :
11 décembre 1970

devant la Commission d'Examen :
MM. J.A. THOMAS Président
A. HOLLANDE Examinateur
P. LEPINE Examinateur
P. MORNET Invité.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur J.A. THOMAS,
Président de mon jury de Thèse.

Son accueil bienveillant au Centre de Physiologie, Cellulaire, sa direction éclairée, son incessant intérêt à mes résultats, son souci de m'en laisser le fruit, sont les motifs de l'admiration que je lui porte, de la reconnaissance que je lui dois et de la respectueuse symptahie que je lui manifeste.

A Monsieur le Professeur P. LEPINE, membre de
'Académie des Sciences, qui me fait le grand honneur de
ien vouloir examiner mon travail, j'adresse mes respectueux
emerciements et l'expression de toute ma déférence.

A Monsieur le Professeur A. HOLLANDE, Professeur à
a Faculté des Sciences, qui a bien voulu participer à mon
ury de thèse, en témoignage de ma respectueuse considération.

A Monsieur l'Inspecteur Général P. MORNET,
Chef du Département Recherches Vétérinaires
à l'Institut National de la Recherche Agronomique.

Qu'il veuille bien trouver dans cet ouvrage une modeste contribution de ma reconnaissance pour la confiance dont il m'a honoré et les facilités de travail qu'il m'a accordées.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523711_0055

A Monsieur J. AYCARDI, Directeur de la Station de Pathologie Aviaire, en lui exprimant ma vive gratitude pour les moyens qu'il a mis à ma disposition et pour les sagaces conseils que j'ai reçus de lui.

A tous mes collaborateurs, collègues et amis, de Paris et de Nouzilly pour leurs indispensables et généreux appuis.

A ma femme et à mes enfants, en gage de l'affection que je leur porte.

S O M M A I R E

INTRODUCTION : Revue générale sur la maladie de Marek ... 1

A. Définition.
B. Historique.
C. Epizootiologie.
D. Etude clinique : symptômes et lésions.
E. Diagnostic.
F. Traitement.
G. Prophylaxie.
H. Etiologie : Agent pathogène, propriétés des virus, réceptivité des oiseaux, contamination, voies de pénétration.

MATERIEL ET TECHNIQUES : 11

A. Locaux et installations.
B. Oiseaux.
C. Virus. Traitement et techniques d'inoculation.
D. Techniques d'observation.

RESULTATS :

Chapitre I - Transmission cellulaire : sang, follicules plumeux 20

- Transmission acellulaire : sang, follicules plumeux 23

Chapitre II - Transmission précoce ou tardive..... 25

Chapitre III - Transmissions locales 27
- nasales,
- nerveuses,
- pulmonaires,
- bourse de Fabricius.

Chapitre IV - Images histologiques et cytologiques 33
- Morphologie : .schémas classiques,
.formes néoplasiques,
.autres formes.

- Dynamique de l'établissement des lésions.

Chapitre V - Images d'ultrastructure :

- Cellules : tumeurs nerveuses 38
  - tumeurs viscérales,
  - autres tissus non tumoraux.
- Particules : fréquence par organe et par âges 41
  - morphologie :
    . type Herpès et type C .. 44

DISCUSSION ET COMMENTAIRES :

Chapitre I - Transmission expérimentale 46

- Transmission cellulaire,
- Transmission acellulaire.

Chapitre II - Nature et établissement des lésions 49

A. Formes néoplasiques,
B. Autres formes lésionnelles,
C. Malignité et métastases.

Chapitre III - Nature virale de la maladie 54

A. Dissémination générale dans l'organisme,
B. Virémie des donneurs non porteurs de lésions,
C. Maladie infectieuse.

Chapitre IV - Nature de l'agent 56

A. Particules de type Herpès,
B. Autres particules.

CONCLUSIONS GENERALES : 60

BIBLIOGRAPHIE : 66

PLANCHES : I à IX.

INTRODUCTION : Revue générale sur la maladie de Marek.

A.- DEFINITION.

La maladie de Marek est une maladie contagieuse, transmissible, spéciale aux volailles, se traduisant par le développement de tumeurs sur les nerfs et différents tissus ou organes.

Elle a été également mentionnée sous d'autres appellations : paralysie infectieuse, polynévrite interstitielle chronique, neurogranulomatose infectieuse, neurolymphomatose, leucémie lymphoblastique réticuloendothéliose. Ces divers synonymes s'efforcent de rendre compte de certaines particularités ayant trait soit à la clinique, soit à l'histologie, soit à la pathogénie de cette maladie.

Pour autant que certaines d'entre elles seront évoquées au cours de la discussion, nous rappellerons les bases de leur appellation.
Mais dans le cas général nous emploierons toujours le vocable "maladie de Marek", comme c'est la règle dans les articles récemment publiés.

Cette maladie est souvent rattachée aux leucoses des volailles qui servent depuis longtemps de modèle d'étude aux chercheurs du monde entier, penchés sur les cancers transmissibles de l'homme et des animaux. Nous verrons que ce rapprochement est étayé par de nombreux caractères communs.

B.- HISTORIQUE.

C'est en 1907 que MAREK décrivit la maladie des volailles qui porte actuellement son nom.

Peu à peu des travaux ont été publiés dans les décades ayant suivi la description de Marek : aux Etats Unis, ce furent ceux de PAPPENHEIMER, DUNN et CONE, en Hollande ceux de VAN DER VALLE et WINKLER JUNIUS, en Grande Bretagne ceux de GALLOWAY, en Allemagne ceux de SEIFREID puis ceux de LERCHE et FRITSCHE.

L'extension aux Etats Unis a suscité des travaux sur la transmissibilité (JUNGHERR - BLACKEMORE), sur la nature contagieuse et virale de cette maladie, en même temps que s'affirmait l'idée d'une néoplasie.

La diffusion en Europe attirant l'attention générale, l'apparition d'épizooties à forte mortalité dans tous les pays, ont confirmé l'intérêt économique et scientifique de la maladie de Marek. Les plus importants travaux ont eu trait à la distinction avec les leucoses aviaires (CAMPBELL - BIGGS), à la reproduction expérimentale (BIGGS et PAYNE - SEVOIAN), à la recherche de l'agent viral (CHURCHILL et BIGGS - NAZERIAN et coll. - EIDSON et coll.).

C.- EPIZOOTIOLOGIE.

Si la maladie décrite par Marek en 1907 ne frappait que quelques oiseaux elle est maintenant en extension dans le monde entier. Principalement observée actuellement aux Etats Unis d'Amérique, en Europe (Grande Bretagne, Espagne, Allemagne, Italie, Hollande, Bulgarie), elle est répandue en France où ses formes sévères se manifestent dans de nombreuses régions avicoles.

Les espèces affectées par la maladie naturelle sont presque exclusivement les volailles (Oiseaux - Carinates - Galliformes - Phasianidés - Gallus Gallus). Quelques cas auraient été relevés sur la caille, le faisan, le dindon, le canard, le cygne, l'oie (BAXENDALE).

.Les particularités de cette maladie ont autorisé son classement dans divers groupes pathologiques :

.les particularités cliniques vers le classement des paralysies, polynévrites,

.les particularités anatomopathologiques vers les maladies tumorales (lymphomes, neurolymphomes, réticuloses),

.les particularités pathogéniques vers les inflammations spécifiques (neurogranulomatoses) les néoplasies ou les maladies d'auto-immunisation.

L'inclusion dans le groupe des leucoses aviaires ou son exclusion a été longtemps discutée.

En faveur de l'inclusion, sont relevées la haute fréquence des formes tumorales sans lésions nerveuses macroscopiques, la nature lymphoïde des tumeurs, la difficulté relative de la transmission comme cela se voit dans les leucoses, la concomittance des deux maladies dans un même troupeau.

L'exclusion du groupe des leucoses aviaires est justifiée par l'histologie des lésions nerveuses qui n'ont pas toujours le caractère tumoral attendu, l'absence dans les cellules des poulets infectés de l'antigène spécifique du groupe viral formé par les virus des leucoses aviaires et les tumeurs de type Rous.

CAMPBELL et BIGGS ont eu le mérite de souligner qu'on ne pouvait étudier une maladie incluse dans un groupe complexe et qu'en première analyse il convenait de la considérer comme une entité particulière. Cette attitude de principe a guidé les études expérimentales qui ont abouti depuis à de bons résultats scientifiques.

D.- ETUDE CLINIQUE.

Afin d'éclairer certains points expérimentaux, voici un aperçu des symptômes et des lésions.

1. SYMPTOMES.

La maladie de Marek sévit sous deux formes principales : la forme subaiguë et la forme aiguë.

La forme subaiguë ou "classique" correspond à la maladie décrite par les premiers auteurs. Elle s'exprime surtout par des paralysies des membres (pattes et ailes) qui débutent à des âges variés entre le 1er et 7ème mois (démarche indécise, défaut d'équilibre, doigts rapprochés et pattes en position anormale, ailes pendantes...) qui progressent en quelques jours et se terminent par la mort.
On décrit classiquement une forme oculaire évoluant seule (iritis, iridocyclite) ou associée aux autres signes nerveux.

La forme aiguë se traduit par un brutal arrêt de la croissance ou de la ponte, de l'affaiblissement, de la prostration, par le début de paralysies diverses et par la mort.
Des signes complémentaires sont observés mais le plus souvent avec la forme classique (axénie, défaut d'emplumement, difficultés respiratoires, diarrhée) et très rarement des troubles légers de méningite ou méningoencéphalomyélite.

2. LESIONS.

Elles sont caractéristiques de cette affection lorsqu'elles siègent sur les nerfs. Bien qu'il n'y ait pas de systématisation, mais une distribution variée, les nerfs spinaux sont atteints de façon spectaculaire : nerfs du plexus brachial (racines émises par la 12ème et 13ème paires cervicales et la 1ère et 2ème paires thoraciques), nerfs du plexus lombo-sacré (1ère, 2ème, 3ème racines sacrées donnant les nerfs lombaires, 4ème, 5ème, 6ème, 7ème et 8ème racines sacrées donnant les nerfs ischiatiques ou plexus sciatique). Les nerfs du système végétatif sont également atteints (nerfs vagues ou pneumogastriques, nerfs issus de la chaîne sympathique paraverticale et en particulier plexus coeliaque, mésentérique crânial et caudal).

Les nerfs sont hypertrophiés, de façon irrégulière, non symétrique; ils sont vitreux et de couleur grise, les tumeurs ne déforment pas leur enveloppe conjonctive. Cette hypertrophie est particulièrement manifeste sur les filets nerveux habituellement de petite taille : par exemple, les nerfs vagues voient leur diamètre multiplié par quatre. Ils perdent leur caractère de brillant et d'élasticité pour devenir durs, fibreux, difficiles à couper.

La fréquence et la gravité de l'atteinte de chaque nerf varient d'un animal à l'autre ainsi que la corrélation avec les tumeurs viscérales. Il n'y a pas de rapport évident entre la sévérité de l'atteinte et la longueur de l'incubation, mais les plus grosses lésions s'observent surtout sur les sujets malades aux environs de la période moyenne de latence lors d'infection expérimentale.

Principalement, lors des épizooties de caractère aigu, les lésions siègent sur d'autres organes que les nerfs :

1°) les gonades (testicules et ovaires) sont les plus atteintes, les tumeurs sont incluses dans les organes transformés, en masses blanc grisâtre, de consistance molle, très hypertrophiées.

2°) le foie, les reins, le coeur, peuvent être déformés par des nodules crémeux qu'on retrouve également dans la rate, le gésier, le ventricule succenturié, les poumons, le thymus, les follicules plumeux. Plus rarement, les muscles striés portent de telles tumeurs.

Lors de la maladie aiguë, alors que dominent les tumeurs diverses, les lésions nerveuses peuvent être discrètes.

L'atrophie prématurée de la bourse de Fabricius est fréquemment rencontrée,(97).

Du point de vue de la microscopie optique, les lésions nerveuses, qui ont fait l'objet de descriptions (110) (148) (162), ont montré une certaine constance des types de cellules qui les composent. Certains nerfs, sans être hypertrophiés, sont nettement pathologiques. Rarement, les lésions s'offrent sous l'aspect de foyers bien délimités, mais plutôt, elles englobent des régions étendues, s'insinuant entre les fibres nerveuses en files ou colonnes. Bien qu'il soit difficile de caractériser la première phase pathologique, on pense que les lésions de début consistent en une infiltration légère de cellules étrangères au tissu, d'abord autour des vaisseaux puis d'une façon disséminée. Souvent aussi, on constate un oedème imprégnant le tissu de soutien des fibres. Puis les cellules deviennent de plus en plus nombreuses, envahissant complètement le nerf, au détriment des axones myélinisés ou non, ou des neurones dans les ganglions spinaux et sympathiques, donnant à cette invasion l'allure soit d'un foyer inflammatoire, soit d'un processus tumoral.

Les régions atteintes ne sont pas limitées à quelques zones mais largement étalées le long du nerf et il n'est pas rare de voir de longues files cellulaires accompagnant les faisceaux de fibres qui se dirigent dans un nerf collatéral.

L'histologie des tumeurs révèle que beaucoup de zones tumorales sont profondément situées, dans les organes atteints. Tous les degrés sont observés, depuis le petit foyer de 30 à 50 cellules, mal délimité mais tran-

chant au milieu des éléments caractéristiques des tissus, jusqu'à l'invasion massive, homogène, rendant l'organe méconnaissable. La vascularisation de l'organe est conservée jusqu'au stade ultime et il ne se crée pas de néovaisseaux.

Parmi les autres lésions histologiques citons la fréquence rare de l'atteinte du système nerveux central sous forme de manchons périvasculaires et sans porter atteinte à l'intégrité des neurones.

La cytologie des cellules anormales des tissus infiltrés fait ressortir la présence constante de diverses catégories cellulaires :

- lymphocytes typiques à noyaux petits, rond et chromatine condensée,
- cellules voisines des lymphocytes, mais à caractères plus primitifs que ceux-ci, proches des lymphoblastes, à forme générale arrondie à cytoplasme légèrement basophile à fines granulations, à gros noyau riche en chromatine non condensée en mottes,
- cellules à cytoplasme fortement basophile, pyroninophiles,
- histiocytes typiques à noyaux allongé et qui dans les formes graves s'assemblent en une structure pavimenteuse,
- plasmocytes caractéristiques,
- leucocytes polynucléaires à granulations pseudoéosinophiles (hétérophiles),
- mastocytes à grosses granulations.

Cette population cellulaire variée n'est pas toujours uniforme d'un nerf à l'autre, ou même d'un endroit à l'autre, mais assez régulièrement le nombre et le type des cellules d'infiltration sont assez homogènes chez un même oiseau atteint.

Que deviennent les éléments habituels des tissus altérés ? Les cellules de SCHWANN semblent les premières et les plus gravement atteintes. On voit leurs cytoplasmes et les noyaux allongés se rassembler en une grosse masse cellulaire, plus claire, perdant tout contact avec les axones qu'elles soutiennent. La gaine myélinique se fragmente en petits globules comme dans les processus de dégénérescence wallérienne. Les cellules de SCHWANN, libérées, s'assemblent en colonnes épaisses, résistant longtemps à l'invasion par les cellules lymphoïdes puis disparaissant après des stades de caryolyse ou caryorhéxis. Les neurones des régions affectées (ganglions spinaux ou sympathiques) continuent de présenter leur aspect habituel à un stade avancé de l'infiltration spécifique, mais finissent par disparaître. On connait mal le devenir des rares cellules de soutien de l'endonèvre au milieu des fibres nerveuses et de leurs axolemnes.

Dans les tumeurs des gonades et autres organes, les cellules nobles du tissu primitif s'altèrent progressivement lorsqu'elles sont comprimées par les cellules d'infiltration lymphoïdes : lymphocytes, cellules de type lymphoblastiques, cellules basophiles, histiocytes, plasmocytes, leucocytes hétérophiles.

L'aplasie de la zone folliculaire de la bourse de Fabricius est à noter comme une lésion non tumorale.

L'ultrastructure des lésions nerveuses a confirmé l'histologie des altérations observées en microscopie ordinaire (167) : invasion lymphoblastique, oedème et altérations de l'axolemne (gaine de SCHWANN et myéline), développement du réseau collagène. Les rapports récents s'attachent plutôt à la présence et à la morphologie des particules virales dans les différents organes tumoraux (149) (125).

E.- DIAGNOSTIC.

La caractérisation de la maladie de Marek est aisée par les seuls moyens de l'observation clinique, nécropsique et microscopique.

A l'opposé, les moyens expérimentaux les plus divers manquent de constance ou de spécificité pour supplanter les critères d'observation que nous avons retenus dans nos protocoles.

Les procédés du diagnostic expérimental sont groupés de la façon suivante :

. la recherche directe du virus chez l'oiseau infecté ne peut se concevoir que si l'on est absolument certain de reconnaître l'agent virulent. Nous verrons que plusieurs auteurs ont observé de façon rare, dans les organes ou les lésions des poulets malades, des particules de types différents, bien que les cultures cellulaires à partir de ces organes soient infectées par un virus de type Herpès. De plus, certains oiseaux peuvent être porteurs de l'agent virulent sans qu'eux-mêmes montrent des lésions macroscopiques ou microscopiques (infection latente ou chronique).

. la recherche indirecte du virus peut se réaliser par l'inoculation à des poulets sensibles ou par la mise en évidence du virus au moyen des cultures cellulaires (observation d'effets cytopathogènes après plusieurs passages). On peut aussi révéler dans les coupes tissulaires, par la méthode d'immunofluorescence (139) l'antigène viral couplé à un sérum de spécificité reconnue. On peut encore caractériser les anticorps spécifiques présents dans le sérum des oiseaux infectés, par immunoprécipitation à l'aide d'antigènes préparés en cultures cellulaires, mais beaucoup de porteurs d'anticorps ne sont pas des malades chroniques ou en puissance.

F.- TRAITEMENT.

A défaut de thérapeutique économiquement applicable aux oiseaux malades, soulignons l'intérêt scientifique de certaines tentatives par les immunodépresseurs qui effacent certaines lésions au moins temporairement.

G.- PROPHYLAXIE.

Pour protéger les volailles contre les effets redoutables de cette maladie contagieuse, quelques méthodes semblent pouvoir se compléter.

La protection sanitaire associe l'action défensive, par la recherche des troupeaux indemnes et leur mise à l'abri grâce à l'emploi de locaux isolés rationnellement édifiés, et l'action offensive par la désinfection systématique après le passage d'une bande d'oiseaux. Ces méthodes sont détaillées, en ce qui nous concerne, au chapitre "Matériel et Techniques". Très peu de troupeaux vivent actuellement dans le monde, dans des conditions sûres de protection sanitaire.

La prophylaxie médicale consisterait à vacciner les oiseaux contre l'agent présumé de la maladie. Quelques procédés sont récemment proposés et mis à l'étude : ce sont toujours des vaccins à base de virus vivants, spontanément ou artificiellement atténués. Nous avons formulé ailleurs (47) les conditions de l'utilisation de tels vaccins.

Un autre mode de prophylaxie consiste à exploiter la possibilité de transmission aux poussins de la résistance des parents, telle que l'ont montrée divers auteurs (53) (27). Cette pratique peut apporter des résultats intéressants pour la protection des troupeaux, sinon contre la multiplication virale, du moins contre l'éclosion de la maladie. Du point de vue expérimental, il conviendra, au contraire, d'éviter de choisir une lignée de volailles présentant une grande résistance génétique.

H.- ETIOLOGIE.

La recherche des causes de cette maladie conduit à étudier un certain nombre de points d'intérêt scientifique.
Depuis que la transmission expérimentale est devenue plus aisée, un certain nombre d'agents ("isolates" en langue anglaise) ont été étudiés. Leurs dénominations rappellent les conditions de leur obtention : J.M., CONN A., G.A., H.P.R.S. 14 et 16, etc...
Tous sont des suspensions de cellules vivantes dérivées du sang ou des tumeurs gonadiques, et elles sont entretenues par passages sur des poulets sensibles, avec ou non quelques passages en cultures cellulaires. Certaines de ces souches, par suite de passages sur des oiseaux infectés naturellement ou artificiellement par d'autres agents pathogènes, ne sont pas des souches pures de virus (39) (56). Leur conservation semble dépendre de la vitalité des cellules supports, et par conséquent réclame les mêmes soins que celles-ci (azote liquide avec protecteurs de congélation).

Dans plusieurs de ces souches, des formes virales diverses ont été observées grâce au microscope électronique. Chez les poulets infectés ou malades, des particules du type des virus des leucoses aviaires, ont été trouvées dans la rate et la moelle osseuse (18), les leucocytes et le plasma (44) (83), les muscles oculaires, les membranes basales de l'iris et les nerfs de l'oeil (152), les tumeurs viscérales (122). Mais il a été également trouvé des particules de type Herpès dans une tumeur rénale (144) et dans les follicules plumeux (125). Lorsque les tissus infectés ont représenté l'inoculum de cultures cellulaires, des particules de type C ont été notées (39), mais le plus souvent des virus de type Herpès (52) (123) (76) (57); la régularité de la présence de ces derniers dans les cultures incitant beaucoup d'auteurs à les désigner comme l'agent de la maladie de Marek.

Les propriétés communes à ces souches de virus sont liées à l'association étroite virus-cellules : la difficulté habituelle de transmission par les fractions acellulaires (filtrats, lysats, extraits, surnageant de centrifugation) (27) (39) (123), la précarité de la vitalité du virus qui calque la résistance des cellules aux agents physiques et chimiques, la spécificité cellulaire plutôt que virale des extraits antigéniques, la pauvreté constante des produits virulents en particules infectieuses qu'on

suppose incluses au coeur des éléments cellulaires, l'intrication des lésions provoquées par le virus et par les cellules vivantes (Graft-Versus Host Reaction)(27), l'absence de virus dans les milieux de culture recouvrant les cellules infectées, tout cela explique que le virus soit rarement isolé et que la preuve radicale de son action pathogène ne soit pas faite.

Les cultures cellulaires (reins de poulet, fibroblastes d'embryons de poulet ou de canard) présentent, après parfois quelques passages aveugles, les foyers d'effets cytopathogènes : arrondissement, vacuolisation, formation de cellules multinucléées(52). Au cours des passages, ces foyers s'agrandissent jusqu'à former des plages visibles à l'oeil nu. Le nombre des plages est en corrélation avec le nombre de particules infectieuses dénombrées par les essais in vivo : toutefois, une dissociation de cette relation a été notée où le nombre des plages reste fixe tandis que la virulence s'éteint, et bien que la culture conserve des propriétés immunisantes. Cette formation de plages est entravée par la 5-5' iododésoxyuridine comme pour certains virus à ADN (52).

Une étude physico-chimique a été faite (109) sur des particules virales de type Herpès, isolées à partir de cultures infectées. Le pourcentage des bases Guanine Cytosine (56 à 57 p.cent des moles) est à rapprocher de celui des virus Herpès du genre Cytomegalovirus.

Les matières virulentes de la maladie naturelle sont vraisemblablement les débris de plumes et de squames épidermiques (13), mais les excreta fécaux et nasaux ont été incriminés (71).

La transmission expérimentale s'accommode plus aisément de sang prélevé sur les oiseaux atteints. On sait que l'excrétion virale est précoce et qu'elle dure jusqu'à la mort de l'animal. On a pu démontrer que le sang prélevé sur des oiseaux contaminés mais demeurant indemnes de maladie, était porteur de virus, ce qui explique la contagion à partir de troupeaux apparemment sains.

La résistance du virus, dans les conditions naturelles, semble grande : le virus persiste plusieurs semaines dans la poussière de plumes, ce qui est un paradoxe lorsqu'on connaît l'association de sa vitalité à la fragilité cellulaire. Les désinfectants majeurs, en particulier la formaldéhyde à l'état gazeux, détruisent les propriétés virulentes.

La réceptivité des oiseaux module de façon très expressive le tableau clinique de la maladie. En particulier l'ascendance des volailles a une très grande importance : certaines lignées présentent une résistance accrue par rapport à d'autres de la même race ; ce défaut de sensibilité se transmettrait comme un facteur génétique : il peut être exploité dans le secteur économique pour augmenter la résistance globale d'un troupeau ; il ne doit pas être méconnu lors d'essais expérimentaux.

L'âge est aussi un facteur primordial : expérimentalement, il a été montré que la plus grande sensibilité s'observait à un jour d'âge et qu'elle s'atténue progressivement ensuite. Cette sensibilité des poussins d'un jour est parfois contrariée par la transmission d'anticorps maternels qui persistent deux à trois semaines après l'éclosion (49).

Le sexe femelle semble plus prédisposé que le mâle à la manifestation tumorale de la maladie de Marek, mais on ne sait pas si cette sensibilité clinique va de pair avec la faculté de multiplier le virus.

Le mode habituel de la contagion naturelle est le contact direct ou indirect (air et poussières) qui assure la transmission dite "horizontale" entre les oiseaux de même génération.

Il a été recherché si, à l'exemple des leucoses aviaires, la transmission pouvait se faire "verticalement" d'une génération à l'autre, par la présence du virus dans l'oeuf et sa persistance à l'éclosion. Bien que cette éventualité ne soit pas improbable, il semble qu'elle soit rare et que la plupart des cas de transmission par l'oeuf pourraient être évités par une désinfection soignée des coquilles avant l'éclosion. Malgré cela, l'étude expérimentale se trouvera plus assurée de l'utilisation exclusive d'oeufs en provenance d'un troupeau indemne.

Les voies de pénétration dans l'organisme sont liées à la nature des supports du virus. Il est probable que l'air chargé de poussières contamine les voies respiratoires, ce qui suggère la protection des poussins grâce à la filtration de l'air. Expérimentalement, de nombreuses voies de pénétration ont été explorées : la préférence est accordée à la voie intra-abdominale.

Cette maladie des volailles, identifiée depuis longtemps, n'est vraiment bien connue que depuis quelques années. De nombreux points restent obscurs : sur la nature virale de la transmission, sur la nature et la forme des tumeurs développées et sur le mécanisme de la cancérisation.

Notre travail a pour but d'apporter quelque contribution scientifique dans ces domaines.

MATERIEL ET TECHNIQUES :

A.- LOCAUX et INSTALLATIONS.

Tous les essais in vivo ont été poursuivis dans des locaux pourvus d'installations spéciales. En effet, l'extrême contagiosité de la maladie de Marek impose que chaque lot inoculé soit absolument séparé de ses homologues expérimentaux : la transmission par contact est précoce et efficace d'un oiseau infecté à un oiseau indemne. Il importait également d'interdire toute sortie du virus capable de contaminer d'autres troupeaux à distance.

Nous avons disposé, pour le logement des oiseaux infectés, de deux bâtiments séparés par un espace de quarante mètres, chacun de ces bâtiments étant composé de deux salles séparées par un sas. Chaque salle est parfaitement étanche et l'air qui la traverse est filtré, à l'entrée comme à la sortie, sur une batterie de filtres dont la porosité terminale est inférieure à 0,3 micron. Un dispositif de ventilation permet de maintenir chaque salle en légère dépression pendant les heures normales et en dépression plus forte pendant le franchissement des portes.

L'équipement intérieur comporte dans chaque salle une batterie à plat en grillage avec récolte des déchets sur un tapis de plastique, et un isolateur analogue aux systèmes "Germ-free" mais de conception particulière. Celui-ci, fabriqué dans nos ateliers (J.MAILLARD) est en plastique rigide capable de supporter aussi bien des pressions négatives que positives. La ventilation artificielle apporte un air réchauffé, humidifié, filtré sur filtres absolus ("Cambridge absolute filter") et expulse l'air vicié après une filtration identique. Pour nos essais, la pression intérieure est toujours négative. Les oiseaux sont logés dans une cage intérieure en grillage, les aliments et l'eau de boisson sont apportés dans des récipients hermétiquement clos à travers un sas liquide. La fosse à déchets est calculée pour maintenir 10 animaux pendant au moins 60 jours. Un personnel spécial est affecté à ces locaux. La discipline la plus rigoureuse est exigée (changement de vêtements et de bottes, désinfection des mains, usage des pédiluves) à chaque franchissement.

Des lampes germicides désinfectent en permanence le sas d'entrée. A la fin de chaque expérimentation, la salle tout entière est désinfectée une première fois aux vapeurs de formol avant l'enlèvement des déchets, puis nettoyée au jet de vapeur d'eau surchauffée, et désinfectée à nouveau au formol avant l'entrée de nouvelles bandes.

La qualité de la protection sanitaire est vérifiée par le maintien de lots de contrôle parfaitement indemnes de maladie de Marek pendant toute la durée des expérimentations.

B. - OISEAUX.

Le choix de la souche de travail est d'une particulière importance : en effet, d'une part, la sensibilité et la résistance des différentes souches de poulets à la maladie de Marek semblent être bien démontrées (COLE), d'autre part la diffusion actuelle de la maladie fait que de très nombreux troupeaux sont atteints de formes plus ou moins pathogènes risquant de troubler les expérimentations.

A défaut de disposer d'une lignée très sensible et indemne, nous avons choisi la sécurité en employant la souche Leghorn dite PA 12, élevée à notre Station en troupeau "fermé" depuis 4 ans, dans des locaux à protection sanitaire élevée (locaux "protégés"). Ce troupeau est considéré comme indemne de maladies spécifiques : pullorose, mycoplasmose, parasitoses diverses, encéphalomyélite aviaire, leucose lymphoïde et maladie de Marek sur les parents des poussins d'un jour. Aucun des poussins "témoins" servant aux contrôles des expérimentations n'a été atteint de maladie de Marek. Ce troupeau n'est soumis à aucune prévention chimique (anticoccidiens) ou vaccinale d'aucune sorte. Il répond à la définition de "troupeau orthoxénique" suivant J.AYCARDI et P.SCHELLENBERG (9).

La sensibilité manifestée par cette lignée à l'agent de la maladie de Marek a été reconnue comme stable et satisfaisante (85 p. cent de mortalité moyenne au 80ème jour après l'inoculation vis-à-vis de la souche virale HPRS 16).

Les oeufs destinés à l'incubation sont soumis 2 fois aux vapeurs de formol. L'éclosion se fait dans un incubateur spécial régulièrement désinfecté, et les poussins éclos sont envoyés directement aux locaux expérimentaux pour y être inoculés, et conservés jusqu'à leur mort ou leur sacrifice en fin d'expérimentation.

C.- VIRUS - TRAITEMENTS et TECHNIQUES D'INOCULATION.

Pour l'ensemble des expériences rapportées ici, une seule souche de virus a été utilisée, aimablement fournie par la Station de Recherches de HOUGHTON - HUNTINGDONSHIRE (Grande Bretagne). Cette souche, portant le nom de HPRS 16 a été isolée en 1965 (30) d'un foyer de maladie de Marek aiguë; elle a été entretenue à HOUGHTON par passage *in vivo* et par deux passages en cultures de tissus de reins de poulet (51).

Depuis le début de nos expériences le virus a été passé sans interruption sur les poulets sensibles de la lignée décrite ci-dessus par prélèvement sur des oiseaux cliniquement atteints au 49ème ou au 56ème jour après l'inoculation. Cette époque correspond au plus grand nombre d'oiseaux malades en même temps et capables d'être des donneurs encore vivants le jour de l'éclosion des poussins.

Sauf ce qui sera spécialement indiqué ci-dessus, le "virus" est représenté par du sang recueilli stérilement par ponction cardiaque avec la quantité la plus faible possible d'anticoagulants (citrate de soude, héparine) et conservé dans la glace fondante. Ce sang est utilisé frais, en nature ou soumis à traitements divers, réalisés avec la pratique habituelle de l'asepsie bactériologique.

La séparation des cellules du sang en hématies et leucocytes est réalisée par centrifugation lente et prolongée (50 x g pendant 15 minutes). On obtient un surnageant riche en leucocytes et pauvre en hématies : la moyenne des comptages directs est de 10 à 15 millions de leucocytes au millilitre (soit 30 p.cent des leucocytes totaux) et moins de 1 million d'hématies au millilitre (soit 0,02 p.cent des hématies totales).
Le culot contient la presque totalité des hématies et une fraction leucocytaire, prisonnière de la masse hématique et surtout concentrée dans sa partie supérieure. Des siphonnages délicats permettent, en surface, le prélèvement de leucocytes très purifiés (lymphocytes pour la plupart) et en profondeur, le prélèvement d'hématies peu contaminées.

Le prélèvement leucocytaire est centrifugé à plus grande vitesse (100 x g) pendant 6 minutes pour rassembler les cellules en culot et écarter le plasma. Les leucocytes sont remis en suspension avec une solution saline tamponnée froide (P.B.S. à pH : 7,20), ou broyés mécaniquement avec du sable stérile jusqu'à destruction complète contrôlée au microscope. Le broyat est suspendu en P.B.S. froid et centrifugé à grande vitesse (1.000 x g) pendant 15 minutes. Le surnageant et le culot peuvent servir d'inoculum.

Dans une autre expérience d'inoculum acellulaire, la lyse des cellules du sang a été exécutée de la façon suivante. Le sang virulent est séparé en 2 parties égales, l'une servant de contrôle de manipulation, l'autre étant soumise à l'action lytique de l'eau distillée suivant le protocole ci-après :

. centrifugation à 1.000 x g pendant 15 minutes,

. enlèvement du plasma,

. lavage avec du P.B.S.,

. centrifugation à 1.000 x g pendant 5 minutes,

. enlèvement du surnageant

. lyse à l'eau distillée (ou P.B.S.) (4 fois le volume cellulaire) refroidie à 0°, pendant 2 minutes avec contrôle microscopique. Lorsque le pourcentage d'hématies intactes est très inférieur à 0,1 p.cent, une nouvelle centrifugation à 1.000 x g pendant 10 minutes est mise en oeuvre.

. enlèvement des surnageants (clair pour le sang intact, rouge pour le sang lysé). Pendant la centrifugation le culot lysé s'est augmenté par gonflement des noyaux, le volume initial est reconstitué avec le P.B.S. pour servir d'inoculum.

Les follicules plumeux qui ont servi de matériel virulent, ont été prélevés dans la minute qui a suivi la mort par décapitation. La zone choisie a été la ptéryle ventrale gauche, bande d'implantation des plumes chez le poulet qui s'étend du cou à l'abdomen et qui comporte tous les stades de plumes néoptyles et téléoptyles.

Les plumes de la ptéryle sont rapidement raccourcies aux ciseaux, la bande est détachée et portée en récipient stérile froid, lavée en surface avec du P.B.S. froid, fixée par des épingles d'entomologiste sur un fond de paraffine. Les follicules plumeux sont isolés aux ciseaux fins, dégagés dans leur partie sous-cutanée et extraits avec la partie épidermique qui leur est intimement liée. Les follicules ainsi rassemblés en solution physiologique sont traités soit par l'action des ultrasons, soit par une action mécanique précédée d'une action enzymatique. Pour le traitement aux ultrasons, les follicules en suspension dans le P.B.S. sont soumis à l'action d'un générateur de type M.S.E. pendant 30 secondes (modèle 3000 - 60 W - 20 kc/s).

La suspension est centrifugée à 1.000 x g pendant 8 minutes et le surnageant sert d'inoculum.

Pour le second traitement, les follicules sont méthodiquement grattés à leur surface avec un bistouri jusqu'à arrachement des fibres kératinisées de la gaine interne. La pulpe de grattage est recueillie en solution tamponnée à pH : 7,20 contenant 1 p.cent de hyaluronidase et placée en bain marie à 37° pendant 30 minutes où se produit un léger gonflement des débris tissulaires. Après refroidissement rapide, la centrifugation à 1.000 x g pendant 10 minutes donne un surnageant qui est éliminé parce qu'il contient une quantité élevée de hyaluronidase. Le culot est repris par 10 ml de P.B.S., agité à la main, et soumis à une centrifugation de 1.000 x g pendant 5 minutes. Le surnageant (I) sert d'inoculum.
Le culot est à nouveau mélangé à 10 ml de P.B.S. et ma suspension est désintégrée au broyeur de Potter refroidi par une jaquette de glace.
Le broyage s'effectue à 1.000 tours par minute pendant 3 minutes. La suspension est alors très opalescente et l'examen microscopique révèle l'absence de cellules intactes et la présence de très nombreux débris cellulaires et de grains de substance kératohyaline. Il reste aussi quelques gros fragments de la gaine interne kératinisée.

La partie la plus grossière et qui sédimente en 2 minutes (1 ml) est séparée, additionnée de 5 ml de P.B.S. et sert d'inoculum (I').
La partie légère (9 ml) est centrifugée à 1.000 x g pendant 15 minutes.
Le culot est complété avec 4 ml de P.B.S. et sert d'inoculum (II), le surnageant (clair) est réparti en 2 tubes de la centrifugeuse SPINCO ; ils sont soumis à une centrifugation poussée (200.000 x g pendant 80 minutes).
La partie supérieure du surnageant est récoltée avec soin et sert d'inoculum (III). L'un des 2 tubes est complètement vidé puis 0,2 ml de P.B.S. sont ajoutés pour reprendre le faible dépôt dont une très petite partie sert à exécuter des colorations négatives en microscopie électronique, le reste étant dilué avec 2,8 ml de P.B.S. pour constituer l'inoculum (IV).

La technique d'inoculation habituelle est celle qualifiée d'intraabdominale : sur les poussins éclos du jour, après désinfection à l'alcool de la peau ventrale, elle se pratique dans le quart supérieur gauche, légèrement à côté de la masse du gésier.
Une injection dans une région plus postérieure risque de perforer le sac vitellin. La fragilité et la minceur de la paroi abdominale obligent à utiliser des aiguilles très fines et courtes (1cm de long, 5/10 de mm de diamètre).
Le volume injecté est de 0,20 ml sauf indications contraires.

La voie nasale est expérimentée de façon simple en instillant une goutte de sang virulent dans l'ouverture d'une narine et en exerçant immédiatement quelques pressions pour répartir le liquide à l'intérieur des cornets nasaux.

La voie nerveuse directe a été essayée pour vérifier son électivité. Le nerf choisi pour l'opération est le nerf "sciatique" (tibiofibularis) qui parcourt la cuisse en profondeur, à la face postérieure du fémur. Chez le poussin d'un jour, c'est un petit cordon un peu aplati de 1,5 mm de largeur, formé de 2 troncs fortement accolés. Pour pénétrer ces fins organes, nous avons préparé des aiguilles de verre étiré d'un diamètre externe compris entre 200 et 300 microns, cassées en biseau à leur extrémité, raccordées par une fine tubulure de téflon à une seringue munie d'un curseur à vis ; le tout est siliconé et stérilisé au four. Les poussins sont anesthésiés à l'éther par la méthode dite au tampon par un aide attentif, couchés sur le côté gauche, la patte gauche étendue en arrière, la patte droite ramenée vers l'avant à angle droit du corps. L'animal est soigneusement immobilisé par des bandes adhésives. Après section des plumes de toute la cuisse droite et désinfection, une incision cutanée est pratiquée transversalement un peu en dessous du milieu de la cuisse. Puis à l'aide d'érignes de verre de 2 mm de diamètre, un espace est dégagé entre les plans musculaires postérieurs du biceps fémoral et du semi-membraneux, ce qui permet d'atteindre le nerf sciatique. Le nerf est ramené lentement à la surface, chargé sur son érigne. L'aiguille de verre est approchée, et sous la loupe, insérée dans l'épaisseur d'un des troncs nerveux ; après avoir vaincu la résistance de l'épinèvre, l'injection est pratiquée en déplaçant le curseur à vis de la seringue. Le volume injecté est estimé par des mesures préliminaires à 0,010 ml. L'aiguille est retirée et la plaie est refermée.

L'injection par voie pulmonaire s'effectue de la manière suivante sur le poussin anesthésié à l'éther : une fine canule en tube plastique souple de 1 mm de diamètre est introduite dans la glotte et poussée de 2 cm environ. L'injection doit se faire lentement pour éviter l'éclatement des acinis brutalement dilatés comme nous l'avons observé dans des expériences préliminaires.

L'injection dans la bourse de Fabricius requiert la mise à jour de l'organe. Le poussin est anesthésié. La région sus cloacale désinfectée. Une incision longitudinale est pratiquée au-dessus de la lèvre supérieure du cloaque. Ensuite les fibres des muscles coccygiens et les aponévroses sont délicatement disséquées jusqu'à la découverte de la bourse de Fabricius, petite masse lisse à capsule fragile. Une érigne de verre passée dans la partie antérieure, attire l'organe vers l'arrière et le maintient pendant l'injection de l'inoculum. Après antisepsie, la plaie est refermée par une bande adhésive stérile.

La voie cutanée a été entreprise de deux façons différentes, l'une par la pulpe des follicules plumeux, l'autre par la voie intradermique. Pour la première, sur le poussin anesthésié, les plumes de la ptéryle dorsale sont coupées du côté droit, puis l'arrachement des gaines plumeuses est réalisée après dépôt de paraffine fondue et solidifiée sur une surface carrée de 1 cm de côté : cet arrachement conduit à une légère hémorragie des papilles plumeuses dénudées. Très vite est déposée une goutte de sang virulent qui s'étale sur la surface déplumée et qui sèche en quelques minutes.

La voie intradermique est abordée par des injections multiples à l'aide d'une aiguille fine dans une zone de 1 cm2 environ de la ptéryle dorsale au côté droit, aussi près que possible de la surface cutanée mais sans qu'il soit possible d'éviter de créer de petites localisations sous-cutanées.

Des lots de poussins témoins ou de contrôle sont élevés en même temps:

soit des contrôles d'éclosion maintenus dans les locaux de la "poussinière protégée",

soit des contrôles de contamination au cours des manipulations, maintenus dans les locaux voisins ou à l'intérieur des isolateurs.

D.- TECHNIQUES D'OBSERVATION.

La détection des signes cliniques est faite à intervalles réguliers. L'état général est comparé sur les oiseaux contaminés et leurs témoins, des points de vue de la croissance, de la rapidité de l'emplumement de la faiblesse et de la pâleur des phanères.

Ces signes généraux de la maladie de Marek apparaissent déjà dès le 10ème ou le 15ème jour sur les oiseaux infectés. Les lésions de paralysie débutante sont faciles à détecter, lorsqu'elles atteignent les pattes (début au 20ème ou 30ème jour), sur les jeunes poulets non effrayés par l'observateur prudent.

Sur tous les oiseaux morts ou sacrifiés sont recherchées les tumeurs caractéristiques, d'abord celles des nerfs et dans l'ordre suivant :

1°) nerfs pneumogastriques de part et d'autre du cou, puis longeant les glandes thyroïdes et parathyroïdes, passant sur les troncs axillaires pour se réunir en un seul faisceau à la face inférieure de l'oesophage terminal, se prolonger le long du ventricule succenturié et se ramifier avec les branches des plexus coeliaque et mésentérique crânial. Il faut éviter de confondre avec une lésion d'hypertrophie, le léger renglement présent sur tous les poulets de cette souche Leghorn, juste au-dessous de la glande thyroïde et correspondant à un amas allongé de neurones (ganglion de COUVREUR ou ganglion thoracique

2°) plexus coeliaque et mésentérique crânial : faisceau de nerfs partant de la zone médiane aortique à l'émergence de l'artère splénique et se ramifiant vers la rate, le gésier, le pancréas et le foie. Une dissection permet de distinguer les nerfs hypertrophiés des vaisseaux satellites (artère et veine splénique).

3°) le nerf de Remak (intestinalis) qui longe la partie terminale du tube digestif,

4°) les plexus brachiaux formés par l'union des racines spinales émises au niveau des 12ème et 13ème vertèbres cervicales et 1ère et 2ème vertèbres dorsales et donnant après un court trajet commun les nerfs de l'aile,

5°) les plexus lombosacrés formant deux groupes de nerfs :
les plexus lombaires ayant pour origine les racines émises au niveau des 1ère, 2ème et 3ème vertèbres lombaires,

les plexus ischiatiques ou sciatiques ayant pour origine les racines des 4ème, 5ème, 6ème, 7ème et 8ème vertèbres lombaires et dont on suit le trajet au travers de la partie moyenne des reins et leur émergence dans la cuisse sous forme de nerfs sciatiques (tibiofibularis),

6°) les nerfs intercostaux visibles après soulèvement des masses pulmonaires,

7°) les branches du réseau sympathique paravertébral où l'hypertrophie atteint surtout les ramifications ventrales réunissant chaque étage vertébral.

Les observations portent ensuite sur les organes :

. le foie qui peut être normal ou hypertrophié avec ou non des nodules blanchâtres,

. le coeur porteur de lésions tumorales myocardiques,

. la rate moins souvent atteinte par l'hypertrophie,

. le ventricule succenturié où les tumeurs épaississent la paroi,

. les gonades puisque l'ovaire est la forme tumorale la plus fréquente mais les deux (ou l'un d'eux) testicules peuvent présenter cette lésion,

. les surrénales parfois difficiles à distinguer de l'ovaire tumoral, les reins atteints plus souvent sous une forme diffuse,

. les poumons, les masses musculaires, le thymus, la peau où les tumeurs siègent sur les follicules plumeux, l'oeil avec des tumeurs rétro orbitaires.

En dehors des lésions d'hypertrophie attendues sur les organes ci-dessus, il faut rechercher l'involution précoce de la bourse de Fabricius et du thymus et les lésions éventuelles liées aux diverses inoculations locales.

Un examen minutieux, au besoin en comparant entre eux les organes symétriques, permet de déceler un pourcentage élevé des animaux atteints.

Techniques histologiques : sur tous les oiseaux où le diagnostic de maladie de Marek n'a pas été confirmé ou affirmé par les examens anatomopathologiques, sont effectués des prélèvements destinés à l'histologie. Ces prélèvements portent sur les nerfs d'aspect douteux et systématiquement dans les autres cas sur les plexus brachiaux droit et gauche et les plexus sciatiques droit et gauche. Les sections proximales sont pratiquées à l'émergence des troncs rachidiens, de façon à comprendre les ganglions spinaux sur les pièces prélevées. Une diposition spéciale permet de tirer le meilleur parti possible des coupes longitudinales : en effet, le dépôt dans le fixateur aboutit à des rétractions partielles et, lors de la microtomie, à des pertes de portions nerveuses coupées par petits fragments. De plus les coupes transversales des nerfs ne sont d'aucune utilité pour déceler les infiltrations cellulaires légères ou moyennes, puisque celles-ci siègent habituellement autour des axones et prêtent à confusion avec les cellules de soutien et les cellules de Schwann. Il est important de pratiquer les examens sur des coupes longitudinales de la plus grande longueur possible afin de ne pas craindre d'omettre une lésion localisée. Pour toutes ces raisons, les nerfs, sitôt leur prélèvement, sont déposés sur une plaquette de bristol où ils adhèrent bientôt, avant d'être placés dans le liquide fixateur.

Le fixateur utilisé est le formol sublimé : chlorure mercurique, 45 g; chlorure de sodium, 5g ; eau distillée, 800 ml; formol du commerce à 30 p.cent, 200 ml.

La durée de la fixation est au plus de 21 heures. Le traitement et l'imprégnation sont réalisés de façon automatique, l'inclusion est faite à la paraffine, les coupes sont pratiquées à 5 microns. Deux colorations sont employées :

1°) coloration de fond à l'hématoxyline-éosine-safran pour les cellules de soutien, les fibres conjonctives, la myéline et les oedèmes,

2°) coloration de May Grünwald-Giemsa à chaud pour les cellules d'infiltration.

Les examens microscopiques recherchent la présence des cellules anormales caractéristiques de la maladie de Marek. Dans les coupes de nerfs où tous les degrés de l'invasion peuvent être observés, toute infiltration diffuse par des cellules lymphoïdes est un élément du diagnostic. Parfois nous n'avons pas retenu certains foyers localisés de lymphocytes, lorsque leur position proche de l'épinèvre permettait de penser qu'il s'agissait de foyers appartenant à la séreuse, intriqués avec les racines au moment de leur émergence du trou vertébral.

Techniques de microscopie électronique : les préparations destinées aux examens ultrastructuraux ou à la recherche des particules virales, ont été traitées par les méthodes suivantes :

1°) fixation à l'acide osmique à 2 p.cent en tampon de Millonig, pendant 1 heure à 4°C, sauf pour les follicules plumeux soumis à la double fixation (glutaraldéhyde à 6 p.cent en tampon de Sörensen 0,1 M à pH 7,25 pendant 1 heure à 4°C, puis acide osmique comme précédemment).

2°) inclusion à la résine époxy (Epon) après passages dans les alcools éthyliques et l'oxyde de propylène. Pour tous les nerfs examinés, l'inclusion a été pratiquée de manière à ce que les sections soient longitudinales, et pour les follicules plumeux, de façon à ce qu'elles soient transversales.
L'ultramicrotome de Reichert est utilisé pour les coupes. Afin de situer parfaitement les organes et tissus, des coupes semi-fines à 1 micron sont colorées au Bleu de Toluidine en solution à 1p.cent additionné de 0,5 p.cent de borate de soude à 1 p.cent, et montées en résine synthétique pour l'examen au microscope ordinaire.
Les coupes fines sont colorées par l'actétate d'uramyle à saturation dans l'alcool éthylique à 50° pendant 1 heure à 50° centigrades, rapidement rincées et séchées. Certaines sont colorées à l'hydroxyde de Plomb. Les colorations négatives sont pratiquées à l'acide phosphotungstique à 1 p.cent à pH 7,0 pendant 30 secondes.
Les examens microscopiques sont faits soit à l'aide du modèle HITACHI (HU - 11 B) à 75 kW, soit du modèle PHILIPPS (EM 300) à 80 kW .

RESULTATS :

CHAPITRE I.- TRANSMISSION CELLULAIRE ou ACELLULAIRE

Pour étudier l'importance de l'intégrité cellulaire dans l'efficacité de l'inoculum, la présence de virus capable de déclencher la maladie suivant nos critères a été recherchée dans différentes fractions cellulaires ou acellulaires, provenant soit du sang, soit des follicules plumeux.

1.- TRANSMISSION CELLULAIRE.

a) Cellules du sang.

Dans les expériences n° 903 - 904 - 905 - 908 - 909, l'inoculum provient du mélange du sang des ponctions cardiaques stériles de 5, 6, 2, 5, 5 donneurs respectivement tous atteints de maladie clinique et porteurs de lésions macroscopiques. Le sang a été traité comme il est indiqué dans "MATERIEL et TECHNIQUES". Les poussins d'un jour ont été infectés avec 0,20 ml par voie intraabdominale. Le comptage des hématies et des leucocytes représentant le nombre de cellules inoculées à chaque oiseau a donné les chiffres suivants :

N° de l'expérience	Nature de l'inoculum	Nombre d'hématies inoculées	Nombre de leucocytes inoculés
903	sang total	800 millions	10 millions
	leucocytes	0,06 millions	2,6 millions
	hématies	1200 millions	< 0,01 millions
904	sang total	640 millions	8 millions
	leucocytes	0,09 millions	2,8 millions
905	sang total	pas de comptage	pas de comptage
	leucocytes	pas de comptage	pas de comptage
908	sang total	pas de comptage	pas de comptage
	leucocytes	0,4 millions	4,4 millions
909	sang total	pas de comptage	pas de comptage
	leucocytes	0,4 millions	2,6 millions

La composition cellulaire de chaque inoculum est indiquée exactement et son appellation reflète la teneur dans la catégorie principale (hématies ou leucocytes).

Les résultats de ces diverses expérimentations sont rapportés dans le tableau suivant.

COMPARAISON DE LA VIRULENCE DE DIFFERENTES CLASSES CELLULAIRES

de expé-rience	Nature de l'inoculum	Nombre d'oiseaux				Atteints de lésions spécifiques	
		observés.	morts ou sacrifiés.	positifs(a)	négatifs.	macroscopiques	microscopiques seules
903	sang total (b) infecté. (c)	30	23	30	0	23	7
	hématies (b) (d)	15	6	15	0	5	10
	leucocytes (c) (d)	15	14	15	0	14	1
904	sang total (e) infecté.	29	14	28	1	18	10
	leucocytes (e)	10	5	10	0	6	4
905	sang total (f) infecté.	19	6	15	4	12	3
	leucocytes (f)	12	7	11	1	7	4
908	sang total (g)	23	17	21	2	17	4
	leucocytes (g)	23	16	20	3	15	5
909	sang total (h)	28	28	24	4	21	3
	leucocytes (h)	10	9	8	2	7	1

(a) : maladie de Marek diagnostiquée par lésions macroscopiques ou microscopiques.

(c) (d) (f) : comparaison par le test de χ^2 corrigé pour les petits effectifs des résultats de la colonne (a).

903 : pas de différence entre les résultats globaux (a)

mais en comparant les résultats des lésions macroscopiques et microscopiques on obtient :

(b) (b) : $\chi^2 = 7,94$ (dl = 1) différence significative $P < 0,01$.

(c) (c) : $\chi^2 = 1,37$ (dl = 1) différence non significative.

(d) (d) : $\chi^2 = 11,76$ (dl = 1) différence significative $P < 0,001$.

.../...

904 : pas de différence entre les résultats globaux (a).
(e) (e) : χ^2 = 2,326 (dl = 1) différence non significative ($0,10 < P < 0,20$).

905 : ; pas de différence entre les résultats globaux (a).
(f) (f) : χ^2 = 1,281 (dl = 1) différence non significative ($0,20 < P < 0,30$).

908 : pas de différence entre les résultats globaux (a).
(g) (g) : χ^2 = 0,448 (dl = 1) différence non significative ($0,30 < P < 0,50$).

909 : pas de différence entre les résultats globaux (a).
(h) (h) : χ^2 = 0,300 (dl = 1) différence non significative ($0,50 < P < 0,75$).

L'analyse de ces tableaux nous permet de conclure que l'inoculum leucocytaire, bien que représentant seulement une partie des leucocytes présents dans le sang total, est aussi actif que ce dernier (pas de différence significative pour les 5 expériences). Pour l'inoculum composé des hématies (903), les résultats globaux ne sont pas différents statistiquement des leucocytes et du sang total, mais l'examen plus détaillé des lésions indique un pourcentage plus faible de lésions macroscopiques et plus fort de lésions microscopiques : l'analyse des réponses de ce dernier type montre une différence significative entre le sang total et la fraction hématique ; ceci est corroboré par le comportement clinique des oiseaux beaucoup moins gravement atteints par l'inoculum composé des hématies.

Les fractions cellulaires sanguines ne transmettent pas la maladie de la même façon : facilement pour les leucocytes,
difficilement pour les hématies.

b) Cellules des follicules plumeux.

S'adressant à une autre catégorie de cellules susceptibles d'être virulentes, des extraits de follicules plumeux ont été inoculés dans l'expérience 04. La méthode décrite (découpage et traitement aux ultra-sons) n'ayant pas visiblement altéré les cellules du liquide de suspension, il faut considérer cette préparation comme étant cellulaire.

12 poussins d'un jour ont été inoculés par voie intraabdominale et examinés à leur mort ou leur sacrifice, 10 se sont révélés infectés dont 5 macroscopiquement et les 5 autres avec des lésions seulement microscopiques. Les 2 poulets restants étaient indemnes au 75ème jour après l'inoculation.

2.- TRANSMISSION ACELLULAIRE.

Afin de juger de la possibilité de transmission acellulaire, des expériences ont été entreprises suivant les détails rapportés :

- n° 809 avec du sang soumis ou non à la lyse par l'eau distillée.
- n° 05 avec des leucocytes soumis ou non au broyage cellulaire.
- n° 06 avec des follicules plumeux traités par digestion et broyage mécanique.

Pour les deux premières (809 et 05) les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant.

TRANSMISSION ACELLULAIRE
COMPARAISON DE LA VIRULENCE AVANT ET APRES DESTRUCTION CELLULAIRE

N° de l'expérience	Nature de l'inoculum	Nombre d'oiseaux				Atteints de lésions spécifiques	
		observés	morts ou sacrifiés i.e.	positifs (a)	négatifs	macroscopiques	microscopiques seules
809	Sang total (b) infecté.	24	17	21	3	19	2
	Sang total (b) lysé.	32	2	7	25	2	5
	Néant	50	0	0	0	0	0
05	Leucocytes (c)	10	10	10	0	10	0
	Extraits leucocytaires (c)	9	8	8	1	8	0

(a) : maladie de Marek diagnostiquée par lésions macroscopiques et microscopiques.

(b) (b) : comparaison par le test de χ^2 corrigé pour les petits effectifs des résultats de la colonne (a).

$\chi^2 = 23,69$ (dl = 1) - différence très significative ($P \ll 0,001$).

(c) (c) : comparaison par le test de χ^2 corrigé pour les petits effectifs des résultats de la colonne (a).

$\chi^2 = 2,127$ (dl = 1) - différence non significative ($0,10 < P < 0,20$).

Les chiffres des résultats positifs pour 809 sont statistiquement différents ($P < 0,001$) et permettent de conclure que la lyse pratiquée a détruit une partie de la virulence de l'inoculum initial. Il n'est pas possible de dire que le reliquat d'activité est lié à tel ou telle cellule : en effet les contrôles microscopiques ont confirmé que tous les cytoplasmes étaient détruits et l'hypertrophie des noyaux turgescents ne permettaient pas de les distinguer entre eux. On peut donc dire que la présence de cellules intactes n'a pas été nécessaire à la manifestation de la virulence.

Pour l'expérience 05 , le témoin positif de contrôle était constitué par une suspension de leucocytes dont les expériences rapportées ci-dessus ont démontré l'activité constante (903 - 904 - 905 - 908 - 909). Les résultats positifs des lots ont des chiffres qui ne sont pas statistiquement différents. On peut donc en conclure que le broyage mécanique des leucocytes ne fait pas disparaître le virus de la préparation. Par conséquent l'intégrité cellulaire n'est pas une condition nécessaire de la virulence des leucocytes.

Pour l'expérience 06, les follicules plumeux, prélevés sur des poulets malades au 54ème jour, ont été traités comme il est indiqué à Matériel et Techniques (éclatement cellulaire au broyeur de Potter après traitement à la hyaluronidase).

L'inoculum I' a servi à infecter 7 poussins de race Leghorn doré (réputés moins sensibles que ceux de race blanche) par voie intraabdominale. Tous les poulets, sauf l'un deux, ont été atteints de maladie de Marek (3 avec des lésions histologiques seulement). A noter que l'inoculum I (suspension de départ), inoculé à 15 poussins habituels, était fortement virulent puisque 13 poulets sur 15 ont été malades (12 avec des lésions macroscopiques) Dans le meme temps, les poulets inoculés avec la suspension II (culot après dilution de I') sont tous morts par suite d'incident mécanique le 25ème jour et n'ont pu servir à l'expérience.

Les deux autres inoculums III et IV (surnageant et culot de supercentrifugation) n'ont pas été capables de donner la maladie en 96 et 86 jours à respectivement 19 et 8 poulets inoculés.

De cette expérience nous pouvons seulement retenir que la destruction cellulaire n'a pas altéré les virus libéré des cellules.

CHAPITRE II.- TRANSMISSION PRECOCE OU TARDIVE

Est-ce que la virémie est concomittante de l'établissement de la maladie ? Pour répondre à cette question, nous avons interrogé la précocité de l'excrétion virale et sa persistance au cours de l'évolution de la maladie d'un lot infecté.

Plusieurs expériences ont été lancées pour déterminer l'efficacité de la transmission au moyen de sang récolté sur des oiseaux au début de la maladie et apparemment indemnes par comparaison avec des prélèvements sur des sujets tardivement atteints.

Pour 805 et 806 à partir du même lot de donneurs (804) des prises de sang stériles ont été pratiquées :

. le 35ème jour sur le n° 15 907 malade du 32ème jour et porteur de lésions nerveuses et sur le n° 15 919 malade du 32ème jour et porteur de lésions nerveuses et tumorales.

. le 56ème jour sur le n° 15 902, malade du 39ème jour et porteur de lésions nerveuses.

sur le n° 15 912, malade du 46ème jour et porteur de lésions nerveuses et tumorales.

sur le n° 15 914, malade du 39ème jour et porteur de lésions nerveuses et tumorales.

sur le n° 15 923, malade du 49ème jour et porteur de lésions nerveuses et tumorales.

sur le n° 15 924, malade du 49ème jour et porteur de lésions nerveuses et tumorales.

Pour 905 et 906, le même lot de donneurs (904) a permis de prélever le sang :

. le 20ème jour sur les n°s 19 623 et 19 026 non atteints cliniquement, non porteurs de lésions macroscopiques, mais l'histologie a révélé des infiltrations spécifiques dans les nerfs de ces deux donneurs.

. le 49ème jour sur les n°s 19 629 malade du 40ème jour et porteur de lésions nerveuses.

19 639 malade du 40ème jour et porteur de lésions nerveuses.

19 663 malade du 40ème jour et porteur de lésions nerveuses.

19 665 malade du 47ème jour et porteur de lésions nerveuses.

Les résultats de l'observation de la maladie de Marek clinique ou microscopique sont consignés dans le tableau ci-après.

TRANSMISSION PRECOCE OU TARDIVE - VARIATION AVEC L'AGE DES DONNEURS

de ex- rien: e.	Age du donneur d'inoculum	Nombre d'oiseaux				Atteints de lésions spécifiques	
		Observés	morts ou sacrifiés i.e.	Positifs (a)	négatifs.	macroscopiques	microscopiques seules
(b)	35è j.	9	2	9	0	8	1
(b)	56è j.	26	22	25	1	20	5
(c)	20è j.	19	6	15	4	12	3
(c)	49è j.	28		25	3	24	1

(a) : maladie de Marek diagnostiquée par lésions macroscopiques ou microscopiques.

(b)(b) ,(c)(c) : comparaison par le test de χ^2 corrigé pour les petits effectifs des résultats de la colonne (a).

(b)(b) : $\chi^2 = 2,272$ (dl = 1) - différence non significative ($0,10 < P < 0,25$).

(c)(c) : $\chi^2 = 1,017$ (dl = 1) - différence non significative ($0,10 < P < 0,25$).

Les résultats rassemblés dans le tableau indiquent que dans les deux expérimentations, la virulence des 2 inoculums n'est pas traduite par des chiffres statistiquement différents entre les donneurs d'âges divers.

Ceci est important d'un point de vue pratique pour la suite des expérimentations qui peuvent se poursuivre sans avoir à redouter que la qualité de la transmission soit modifiée par l'âge du donneur. Du point de vue théorique, est soulignée la précocité de la présence du virus dans le sang, alors que les signes cliniques sont inapparents, que les lésions ne se sont pas développées et doivent être décelées par les examens histologiques (20è jour). L'expérience montre encore que les oiseaux tardivement atteints sont toujours excréteurs de virus.

CHAPITRE III.- TRANSMISSIONS LOCALES.

1°) Nasales.

L'expérience 807 comprend pour une partie l'inoculation de sang infecté par la voie nasale. Un lot de poussins infectés par la voie normale (intra-abdominale) montre la virulence de l'inoculum (24 positifs sur 28 inoculés).

Les résultats individuels sont rapportés dans le tableau suivant.

N° de l'expérience.	Nature inoculation	N° des an^x	Ages à examen	SUITES LOCALES				SUITES GENERALES			
				clin.	anat.	hist.	m.Marek	clin.	anat.	hist.	m.Marek
807	sang instillé dans narines	975	81	0	0	0	-	0	0	0	0
		977	81	0	0	0	-	0	0	0	0
		801	81	0	0	0	-	0	0	0	0
		982	81	0	0	0	-	0	0	0	0
		983	81	0	0	0	-	0	0	0	0

Aucun signe et aucune lésion macroscopique et microscopique n'ont été décelés dans ce lot.

2°) Nerveuses.

Pour apprécier la capacité du virus de déclencher des lésions aux points d'inoculation dans les nerfs, deux expériences ont été entreprises : n° 807 et n° 910. Dans cette dernière, nous avons ajouté à la technique décrite, une injection locale préalable d'extraits au 1/10è(118) de nerfs provenant de poulets axéniques de 4 semaines. Les nerfs sciatiques sont congelés et décongelés, broyés au broyeur de Potter en solution physiologique. 3 lots ont été constitués tels qu'ils sont décrits dans le tableau suivant.

de l'exp. rience	Nature de l'inoculation	N° des an[X]	Age à l'examen	SUITES LOCALES				SUITES GENERALES			
				Clin.	Anat.	Hist.	m.Marek	Clin.	Anat.	Hist.	m.M
807	sang infecté inoculé dans le nerf sciatique lot en contact avec lot positif infecté.	941	81	0	0	0	0	+	+	+	+
		942	13	+?	+?	+?	0	0	0	0	0
		943	81	0	0	0	0	0	0	+	+
		944	81	0	0	0	0	+	+	+	+
		945	81	0	0	0	0	0	0	0	0
910	Sang infecté virus i. abdo. -extraits nerfs:	15 449	7	0	0	0	0	0	0	+	+
		15 450	14	0	0	+	0	0	0	+	+
		15 451	47	0	0	0	0	+	+	+	+
		15 452	34	0	0	0	0	+	+	+	+
		15 453	25	0	0	0	0	+	0	0	0
	Sang infecté virus dans nerf: -extraits nerfs	15 441	5	0	0	0	0	+	0	0	0
		15 442	7	0	0	0	0	+	+	+	+
		15 443	14	0	0	0	0	0	0	0	0
		15 444	5	0	0	0	0	+	0	0	0
		15 445	12	0	0	0	0	+	0	0	0
	Pas d'infection locale. -extraits nerfs	15 401	6	0	0	0	0	0	0	0	0
		15 402	13	0	0	0	0	0	0	0	0
		15.403	84	0	0	0	0	0	0	0	0
		15 404	84	0	0	0	0	0	0	0	0
		15 405	84	0	0	0	0	0	0	0	0

Pour les 2 expériences, des lots de témoins confirment la virulence de l'inoculum :

. 807 : 24 positifs sur 28

. 910 : 16 positifs sur 20 (lot témoin négatif sur 20 animaux).

Dans l'expérience 807, un seul animal présente une légère boiterie. Le poulet est sacrifié, le nerf sciatique est légèrement gonflé au lieu de l'intervention, l'histologie confirme la présence d'un granulome inflammatoire avec beaucoup d'oedème et peu de cellules diverses (grands monocytes et histiocytes), cette lésion est différente de celles observées dans la maladie de Marek.

Dans l'expérience 910, une mortalité non rapportée à la maladie de Marek a été constatée. Il faut noter également que pour les examens destinés à la Microscopie électronique de jeunes poussins ont été sacrifiés systématiquement sans attendre l'apparition de signes.

Parmi les détails intéressants, nous relevons que le n° 15 442 sacrifié au 7ème jour montre à l'histologie une grosse infiltration cellulaire localisée au point d'inoculation avec début de nécrose des cellules infiltrées (hématies, hétérophiles et grandes cellules mononucléées) cet aspect est différent du tableau de la maladie de Marek.

Pour l'oiseau 15 449, inoculé par voie abdominale et sacrifié au 7ème jour, le nerf sciatique n'est pas atteint bien que d'autres branches du plexus sciatique droit montrent une infiltration spécifique légère.

Le poulet N° 15 450, inoculé comme le précédent, et sacrifié au 14ème jour, montre de l'infiltration spécifique dans tous les plexus examinés.

3°) Pulmonaires.

Dans l'expérience 01 décrite à "MATERIEL ET TECHNIQUE", 11 poussins inoculés ont été gardés en isolateur et les résultats apparaissent dans le tableau suivant :

DE l'expérience	Nature de l'inoculation	N° des an.[x]	Age à l'examen	SUITES LOCALES				SUITES GENERALES			
				Clin.	Anat.	Hist.	m.Marek	Clin.	Anat.	Hist.	m.Marek
01	Sang infecté dans poumon	13 801	39	0	0	-	0	+	+	-	+
		13 802	5	0	0	0	0	+	0	0	0
		13 803	6	0	0	0	0	+	0	-	0
		13 804	47	0	0	0	0	+	0	+	+
		13 806	11	0	0	+	?	0	0	+	+
		13 807	4	0	0	+	0	0	0	0	0
		13 808	81	0	0	0	0	0	0	0	0
		13 809	43	0	0	0	0	+	+	-	+
		13 810	23	0	0	0	0	+	0	0	0
		13 811	11	0	0	+	?	0	0	+	+
		13 812	4	0	0	0	0	0	0	0	0

Les prélèvements destinés à l'histologie ont été effectués à 3 endroits choisis pour chaque animal : partie basale, partie médiane, et partie apicale. Plusieurs oiseaux ont été sacrifiés pour l'examen en microscopie électronique.

Au 4ème jour, le n° 13 807 présente une inflammation du tissu pulmonaire caractérisée par une infiltration d'hétérophiles et de lymphocytes, l'hyperplasie des cellules endothéliales alvéolaires. Le n° 13 812 ne montre aucune lésion.

Au 11ème jour, les n° 13 806 et 13 811 présentent une zone avec de grandes cellules basophiles, dans l'espace intra-alvéolaire et qui font penser à un début de tumeur. L'examen des plexus révèle que tous les nerfs sont atteints d'infiltration caractéristique de la maladie de Marek.

Un seul animal sacrifié au 81ème jour ne présente aucun signe macroscopique ou microscopique (n° 13 808).

Aucun des animaux morts ou sacrifiés plus tardivement n'était atteint de lésions pulmonaires.

4°) Transmission par la bourse de Fabricius.

Suivant le protocole expérimental décrit, deux expériences 907 et 908 sont décrites dans le tableau suivant :

de ex- rience	Nature de l'inoculation	N° des animaux	Age à examen	SUITES LOCALES clin.	anat.	hist.	m. Marek	SUITES GENERALES Clin.	anat.	hist.	m. Marek
	Leucocytes in-	1 036	27	0	0	0		0	0	+	+
07	fectés 54x10^6	1 037	27	0	0	0		0	0	+	+
	inoculés dans	1 038	27	0	0	0		0	0	+	+
	bourse de Fabri-	1 039	13	0	0	0		+	0	-	0
	cius.	1 040	27	0	0	0		0	0	+	+
	Leucocytes nor-	1 001	12	0	0	0		+	0	0	0
	maux 46x10^6 ino-	1 002	27	0	0	0		0	0	0	0
	culés dans bourse	1 003	27	0	0	0		0	0	0	0
	de Fabricius.	1 004	27	0	0	0		0	0	0	0
		1 005	6	0	0	0		+	0	0	0
	Leucocytes infec	19 841	5	0	0	0		0	0	0	0
08	tés 26 x 10^6	19 842	6	0	0	-		+	0	0	0
	inoculés dans	19 845	11	0	0	0		0	0	+	+
	bourse de Fabri-	19 847	18	0	0	0		0	0	0	0
	cius.	19 844	25	0	0	0		0	0	0	0
		19 848	75	0	0	-		+	+	+	+
		19 863	82	0	0	0		0	0	0	0
	Leucocytes nor-	19 807	74	0	0	-		0	0	0	0
	maux 26x10^6	19 809	74	0	0	-		0	0	0	0
	inoculés dans	19 810	74	0	0	-		0	0	0	0
	bourse de Fabri-	19 811	74	0	0	-		0	0	0	0
	cius	19 836	74	0	0	-		0	0;	0	0
		19 837	74	0	0	-		0	0	0	0

.../...

Il faut remarquer l'importance de la quantité de cellules blanches inoculées (plus de 10 fois la dose employée dans les expériences de passages de leucocytes par voie intra-abdominale). Chacune des expériences présente un lot témoin injecté avec des leucocytes provenant de sujets indemnes.

Pour l'expérience 908, des animaux ont été sacrifiés en bas âge pour les besoins de la Microscopie électronique. Des lots de témoins positifs confirment la virulence de l'inoculum infecté.

907 - 26 positifs sur 29 oiseaux inoculés.

908 - 21 positifs sur 23 oiseaux inoculés et parmi ceux-ci, des lésions nerveuses ont été relevées au 11ème jour et des lésions de la bourse de Fabricius au 25ème jour.

5°) Cutanée.

La transmission par la voie cutanée a été explorée dans l'expérience 02. 3 lots ont été constitués.

1 lot où l'injection est faite directement dans le derme.

1 lot où le sang est déposé sur les follicules arrachés.

1 lot où le sang est injecté par la voie classique intraabdominale et où les follicules plumeux ont été arrachés pour simuler une lésion locale.

...

N° de l'expérience.	Nature de l'inoculation	N° des an.x	Age à examen	SUITES LOCALES				SUITES GENERALES			
				clin.	anat.	hist.	m.Marek	clin.	anat.	hist.	m.Marek
02	Sang infecté dans la peau (derme)	9 763	35	0	0	-	0	+	0	0	0
		9 776	46	0	0	-	0	+	0	+	+
		9 777	45	0	0	-	0	+	+	-	+
		9 778	55	0	0	-	0	+	+	-	+
		9 780	58	0	0	-	0	+	+	-	+
	Sang infecté sur follicules plumeux arrachés.	9 764	43	0	0	-	0	+	+	-	+
		9 768	74	0	0	-	0	+	+	-	+
		9 770	74	0	0	-	0	0	0	0	0
		9 771	74	0	0	-	0	+	+	-	+
		9 772	74	0	0	-	0	0	0	+	+
		9 773	74	0	0	-	0	0	0	+	+
		9 774	49	0	0	-	0	+	+	-	+
		9 775	74	0	0	-	0	0	0	+	+
	Sang infecté par voie intra abdominale, follicules plumeux arrachés.	9 766	58	0	0	-	0	+	+	-	+
		13 862	32	0	0	-	0	+	+	-	+
		13 863	54	0	0	-	0	+	+	-	+
		13 864	46	0	0	-	0	+	+	-	+
		13 865	42	0	0	-	0	+	+	-	+
		13 866	74	0	0	-	0	+	-	+	+

L'absence complète de lésions aux endroits inoculés est remarquable si on la compare à la constance des lésions générales attestant la transmission du virus.

CHAPITRE IV. - IMAGES HISTOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES

Dans ce chapître, nous avons rassemblé les observations classiques ou spéciales recueillies au cours des examens histologiques et cytologiques. Ces commentaires sont illustrés par les photographies rassemblées en planches.

La grande virulence de la souche de virus et la bonne sensibilité des poulets infectés ont influencé l'allure générale des lésions vers le type néoplasique à évolution rapide plutôt que vers le type classique à évolution lente. Les animaux morts de ces formes aiguës et porteurs de lésions macroscopiques ont en général des lésions tumorales très étendues et d'interprétation difficile.

Le souci de pratiquer des examens complémentaires (microscopie électronique) ou à court terme, a déterminé le sacrifice de certains oiseaux non atteints ou légèrement atteints de formes cliniques : l'histologie de leurs nerfs et de leurs organes a apporté des informations précieuses sur la morphologie microscopique des lésions spécifiques et sur la dynamique de leur établissement.

I.- MORPHOLOGIE.

Dans cette étude des formes histologiques et cytologiques, il y a lieu de distinguer :

- les schémas classiques
- les formes néoplasiques
- les autres formations.

a) Schémas classiques.

Dans la revue générale, il a été brièvement rappelé l'aspect des lésions microscopiques en rapport avec les lésions macroscopiques de la maladie de Marek. Dans les expériences rapportées ici, ont été retrouvées toutes les multiples altérations déjà décrites, aussi bien dans les tumeurs nerveuses que dans les tumeurs viscérales:

- pour les nerfs : démyélination des péricaryons, oedèmes, infiltration cellulaire variée (lymphocytes et lymphoblastes, cellules basophiles, histiocytes, etc...)
- pour les viscères : infiltration par des cellules lymphoïdes respectant les tissus principaux.

Parmi les aspects spéciaux, nous avons noté les infiltrations lymphoïdes des ganglions et des rameaux de la chaîne sympathique paravertébrale où le faible pourcentage de fibres myélinisées, le grand nombre relatif de cellules de la neurolemme, gênent l'observation des cellules d'invasion.

.../...

La rareté des manchons périvasculaires au sein des tissus nerveux est notée dans nos préparations. Après une dissection délicate de la jonction nerf spinal - moelle épinière, nous avons relevé la brièveté de l'extension des lésions du nerf à l'intérieur du tissu médullaire.

Les glandes surrénales, rarement citées, peuvent être atteintes par l'infiltration tumorale, qu'elles soient incluses ou non dans les tumeurs des gonades des poulets.

b) Formes néoplasiques.

L'aspect particulier des tumeurs conduit d'abord à une revue des tissus et cellules normales au sein desquels prolifèrent les éléments tumoraux et à une étude ultérieure des cellules tumorales d'invasion.

1°) Les cellules normales des tissus sont, soit bien conservées, soit profondément altérées.

Dans les nerfs, les fibres nerveuses (axones et gaines), même bordées par de longues files de cellules étrangères, peuvent être parfaitement conservées, (Planche I, figure 6) dans leur taille, leur forme régulière, la structure homogène de leur myéline finement granuleuse. C'est la règle que les neurones eux-mêmes, inclus dans les masses tumorales des ganglions spinaux, apparaissent intacts (Planche I, figure 4). La disparition de ces éléments nerveux s'observe lors d'une infiltration massive, mais c'est seulement dans les formes légères, pauvres en cellules tumorales, qu'il est possible de remarquer des altérations : la démyélination de la gaine de Schwann est exprimée par la vacuolisation des parois, leur gonflement, la présence de globules de myéline inclus ou non dans des macrophages (Planche I, figure 7).

Les noyaux des cellules de Schwann sont dilatés, arrondis (Planche I, figure 8) et la cellule entière semble isolée de tout support. L'équipement conjonctif du nerf est peu modifié mais on peut noter parfois un épaississement de l'épinèvre et de la périnèvre dont on suit plus lontemps les prolongements au milieu des faisceaux et des fibres.

En ce qui concerne les gonades, les éléments de la lignée germinale (follicules ovariens et tubes séminifères) sont conservés aussi longtemps que l'invasion tumorale n'est pas complète, mais ils finissent par dégénérer et disparaître (Planche II, figure 3). Les cellules de Sertoli du testicule et les cellules thécales de l'ovaire sont visibles jusqu'à la dégénérescence des éléments germinaux.

Dans les reins, l'infiltration spécifique légère respecte le nephron, mais avec les lésions plus massives, les tubes contournés dégénèrent (Planche II, figure 5) : désordres des cellules épithéliales, lyse cytoplasmique, pycnose et carrhyorexis.

L'absence chez le poulet de localisation préférentielle des glomérules de Malpighi, empêche de bien saisir leurs modifications éventuelles au voisinage des tumeurs étendues.

Dans le foie les tumeurs s'étendent dans les espaces conjonctifs périvasculaires, sans altérer les hépatocytes voisins.

Les fibres du myocarde envahies par les cellules tumorales sont souvent respectées mais parfois détruites. Dans les surrénales les infiltrations dissocient les îlots corticaux et médullaires sans créer des zones de cellules altérées.

En règle générale, dans les tissus étudiés, la prolifération tumorale ne compromet la vie, sinon la fonction, des cellules principales que lors d'une massive accumulation de cellules étrangères.

2°) Deux catégories de cellules néoplasiques sont les éléments caractéristiques des tumeurs : les cellules lymphoïdes et les cellules hyperbasophiles.

. Les cellules lymphoïdes sont caractérisées par leur forme générale arrondie, leur gros noyau riche en chromatine condensée, leur cytoplasme peu apparent. Des éléments analogues aux lymphocytes du sang sont observés (Planche I, figure 6) : petite taille, noyau rond intensément coloré par l'hématoxyline ou le Giemsa, cytoplasme presque invisible sur les coupes, parfois confondu avec les noyaux des érythrocytes parcourant les capillaires sanguins entre les fibres nerveuses.

De plus grandes cellules sont observées, à noyau riche en chromatine dense à cytoplasme clair abondant, abusivement appelées lymphoblastes à cause de leur différentiation moins poussée.(Planche I, figure 1). Présentes dans toutes les lésions, elles pourraient représenter l'élément tumoral principal.

Les cellules lymphoïdes ne suivent pas dans les nerfs une distribution sélective puisque la même lésion voit les 2 types de cellules (Planche I, figure 6). Leur groupement est généralement en files le long des fibres nerveuses, files de 1 à 5 rangées de cellules.
Leur dissémination dans le nerf est rarement totale, mais seulement des zones plus ou moins importantes sont envahies.

Des mitoses sont observées au sein des tissus, rarement dans les lésions massives, mais plus fréquemment dans les altérations légères (Planche I, figure 2), ce qui fait penser que celles-ci sont des signes de début de la maladie. La multiplication des cellules lymphoïdes se fait également par le franchissement de l'endothélium capillaire et aboutit à la formation d'amas lymphoïdes de tailles diverses : cette disposition s'est rarement montrée dans les nerfs étudiés ici.

.Les cellules hyperbasophiles méritent une attention particulière; il s'agit de grandes cellules (10 microns au moins), de forme générale arrondie avec un gros noyau clair à un nucléole bien marqué, et un cytoplasme très basophile. Les cellules de ce type, parfois appelées "Marek' cells" (27) sont pyroninophiles et s'observent dans tous les types de lésions (Planche I, figures 3 et 7) (Planche II, figure 2). Elles sont quelquefois difficiles à distinguer des plasmocytes rencontrés dans les foyers spécifiques.

c) Autres formes histologiques.

Nous avons recherché en vain des réactions de type inflammatoire à la périphérie des tumeurs, au moins lorsque celles-ci étaient assez bien délimitées. A l'intérieur des foyers il peut être observé une participation des éléments de l'inflammation :

. dans les tissus nerveux, sous forme d'oedème dissociant les fibres, souvent pauvre en cellules (Planche I, figure 3), sous forme de dépôts étendus de substance collagène (Planche I, figure 1) en fibrilles allongées dans le sens des fibres nerveuses, et sous forme de cellules spéciales comme les plasmocytes (Planche I, figure 7) les macrophages et les histiocytes (Planche I, figure 1).

. dans les autres tissus sous forme de leucocytes polynucléaires à granulations pseudo-éosinophiles (hétérophiles), groupés en foyers au milieu ou à côté des foyers lymphoïdes (Rein - Planche II, figure 4).

Un autre point indépendant des lésions néoplasiques est l'atrophie prématurée des organes à fonction lymphogène : la bourse de Fabricius et le thymus.

Pour la bourse de Fabricius, est présenté ici le détail histologique de 2 oiseaux du même lot infecté à 1 jour et sacrifié le 20ème jour. La planche II, figures 1 et 2 montrent les degrés d'altération : diminution de la largeur des replis folliculaires, plissement de l'épithélium de bordure qui n'est plus distendu par le gonflement des follicules, réduction de la taille des follicules qui perdent plus ou moins de leur population lymphoïde. La disparition des cellules est telle que réapparaît la couche épithéliale invaginée au cours du développement embryonnaire. La partie centrale est pauvre en cellules, de type lymphoblastique pour la plupart. Il n'est pas relevé de zones de nécrose cellulaire au centre de ces follicules en régression. Aucune réaction inflammatoire périphérique n'accompagne l'aplasie folliculaire.

Pour le thymus, l'atrophie est moins souvent observée et seulement sur des oiseaux malades depuis longtemps : elle consiste en la disparition des thymocytes et le démasquage du tissu réticulé : petites et moyennes cellules à noyau clair, grandes cellules de type hyperbasophile.

Dans ce paragraphe de formes histologiques non néoplasiques, il faut étudier les follicules plumeux qui sont le siège d'une multiplication de particules virales de type Herpès. La zone élective est la partie de l'épiderme invaginée le long de la gaine kératinisée de la plume. Elle comprend 2 ou 3 couches cellulaires à l'extérieur de la couche germinative. Les examens des coupes épaisses de blocs pour la microscopie électronique, ne montrent pas d'inclusions caractéristiques (type A de Cowdry) dans les zones virogènes.

Les plages de substance kératohyaline sont plus nombreuses et l'ensemble des cellules apparait plus irrégulier et plus riche en débris et en vacuoles que l'image prise d'un poulet normal du même age (Planche III, figures 3 et 4). Il n'y a pas d'invasion par des cellules tumorales.

L'histologie des formes non néoplasiques montre que d'autres altérations importantes se développent en même temps que les tumeurs classiques.

II.- DYNAMIQUE DE L'ETABLISSEMENT DES LESIONS.

Il est établi que les lésions peuvent varier d'un nerf à l'autre du point de vue de la gravité et de la teneur en éléments cellulaires particuliers. Nous avons retrouvé ces différences en comparant les lésions des plexus sciatiques à celles des plexus brachiaux.

Mais il est montré ici que les lésions histologiques varient considérablement d'un endroit à l'autre du même nerf (Planche I, figures 2 - 4 et 7) ce qui pose quelques problèmes lorsqu'on tente de ranger les lésions suivant les classifications proposées (type I, II et III de WIGHT) (type A, B, C de BIGGS et PAYNE).

En collationnant les renseignements histologiques pris sur des poulets sacrifiés à diverses époques après l'infection, il apparaît que les lésions débutent de façon très précoce dans les nerfs :

- 1ère semaine ..... 2 cas positifs sur 7
- 2ème semaine ..... 6 cas positifs sur 7
- 3ème semaine ..... 6 cas positifs sur 7

Pour la 1ère semaine, les 2 cas positifs sont du 6ème et 7ème jour après l'inoculation intrapéritonéale habituelle.

Les examens de la bourse de Fabricius ont révélé également la précocité de l'aplasie lymphoïde :

- 1ère semaine ..... 0 cas positif sur 4
- 2ème semaine ..... 4 cas positifs sur 5
- 3ème semaine ..... 0 cas positif sur 1
- 4ème semaine ..... 3 cas positifs sur 3

Il est à noter que les lésions nerveuses apparaissant au cours de la 2ème semaine sont identiques à celles qu'on rencontre sur des animaux atteints de signes frustes à la 10ème semaine après l'infection.

CHAPITRE V. - IMAGES D'ULTRASTRUCTURE

Dans ce chapître nous exposons les résultats acquis par l'étude en microscopie électronique des sujets en cours d'expérimentation. Pour plus de clarté, nous avons distingué l'ultrastructure des cellules tumorales ou infectées de celle des particules d'aspect viral rencontrées dans ces cellules.

I.- CELLULES.

La cytologie ultrastructurale est représentée par peu de travaux généraux portant le plus souvent sur les tumeurs. Nous évoquerons brièvement les points qui nous semblent nouveaux ou importants dans ce domaine.

a) Dans les tumeurs nerveuses, la microscopie électronique montre la résistance à la destruction des neurones et de leurs prolongements axoniques. En particulier, tant que ces derniers sont protégés par une gaine intacte de myéline, ils n'apparaissent pas modifiés ; dans leur cytoplasme compact, on observe le fin réseau de fibrilles allongées dans le sens de l'axone, les microtubules et quelques mitochondries. Mais l'atteinte de la gaine myélinique entraîne la destruction complète des axones.

La cellule de Schwann peut montrer des signes graves de souffrance. Alors qu'elle est habituellement plaquée sur la gaine de myéline, elle peut s'en décoller (Planche IV, figure 1) en laissant un espace vacuolaire entre elle et la membrane basale. Son noyau s'arrondit en devenant plus transparent au flux électronique. Son cytoplasme se vacuolise et devient granuleux, les mitochondries se gonflent. Au contact des cellules lymphoïdes d'invasion, les membranes s'affrontent sans réaliser de ponts du type desmosome. Lorsqu'elles servent de support à plusieurs axones myélinisés, nous avons vu que sa dégénérescence va de pair avec celle de toutes les fibres qu'elles enrobent, et c'est l'ensemble qui subit l'englobement et la digestion par les macrophages. La complète destruction se traduit par l'apparence de paquets, grains ou faisceaux de gaines myéliniques altérées dont seul l'arrangement groupé permet de situer le contour de la cellule de Schwann primitive. Par exception, d'autres cellules de Schwann isolées nous ont apparu comme absolument normales. Nous n'avons pas trouvé d'autres formes de transition entre les cellules normales et les cellules très altérées.

Les neurolemmes sont le siège de modifications ultrastructurales bien visibles chez celles qui sont bien myélinisées, alors que dans les fibres amyéliniques nous n'avons pas observé de changements notables. Les gaines myéliniques présentent deux aspects d'altération : dans le premier, toutes les lamelles semblent avoir fusionné pour donner une couronne irrégulière vers l'intérieur, formée d'une substance dense aux électrons, finement granuleuse, où les grossissements les plus élevés ne laissent plus deviner la structure feuilletée primitive (Planche IV, figure 3). Dans le second aspect, la structure feuilletée peut être conservée mais avec des décollements irréguliers des lamelles qui encombrent l'espace axonique (Planche IV, figure 4).

Nous avons retrouvé la prolifération déjà signalée du collagène, sous forme de fibrilles marquées de bandes alternativement claires et opaques, groupées en faisceaux longitudinaux et transversaux par rapport à l'axe des fibres nerveuses. Leur abondance par rapport aux témoins est surtout apparente dans les lésions dites de début, là où l'invasion tumorale est moins massive.

Dans les espaces intercellulaires, se présente une structure claire, granuleuse avec quelques débris grossiers qui semble correspondre à une zone d'oedème (Planche IV, figure 1).

Les cellules tumorales peuvent être aisément étudiées sur les nerfs moyennement infiltrés. Alors, ces cellules peuvent être classées dans le type lymphoïde et l'observation en microscopie électronique confirme ce caractère visible en cytologie photonique. Si leur présence est anormale dans un tel tissu, leur structure fine ne permet pas de les distinguer des cellules lymphoïdes normales : leur noyau est volumineux à chromatine finement ou grossièrement dispersée, l'appareil nucléolaire est rarement très développé, les contours nucléaires peuvent être arrondis ou irréguliers (Planche IV, figure 1). Leur cytoplasme est très souvent riche en granules ribosomaux qui le rendent opaque aux électrons, et en mitochondries (Planche IV, figure 2). Des inclusions cytoplasmiques diverses peuvent être observées, la plus spéciale nous semble être de grandes plaques de collagène parfaitement identifiées grâce à leur structure fibrillaire.

Au sein de tumeurs très développées, les cellules ont l'aspect indifférencié de cellules blastiques avec un grand noyau peu dense aux électrons et un cytoplasme riche en fines inclusions. Leur identification à des cellules lymphoïdes devient très hasardeuse.

Dans tous ces éléments cellulaires, aucun détail ultrastructural n'est à ce point constant qu'il puisse caractériser leur nature cancéreuse.

b) Dans <u>les tumeurs viscérales</u> et spécialement au niveau des gonades (ovaire et testicule), les nombreuses cellules d'invasion sont du type lymphoïde (Planche II, figure 2), analogues à celles rencontrées dans les nerfs. La diversité des tailles et la basophilie des cytoplasmes ne sont pas relevées aussi aisément qu'en histologie normale. Nous n'avons pas noté de particularités faisant ressortir la nature néoplasique de ces cellules.

c) L'ultrastructure d'autres tissus non porteurs de tumeurs a fait l'objet de nombreux examens du foie, de la rate, des reins, des poumons, de la bourse de Fabricius et de la moelle osseuse. Spécialement, des études systématiques ont été pratiquées sur les poumons et les reins de poussins infectés depuis 4, 6, 11, 14 jours. Aucune accumulation d'allure cancéreuse n'a pu être observée en microscopie électronique, même dans le poumon (n°s 13 806 et 13 811) où un amas de grandes cellules basophiles avait été decelé à l'histologie.

L'étude de la bourse de Fabricius précise les aspects de la disparition des cellules lymphoïdes des follicules en régression. Sur des poussins infectés et sacrifiés au 14ème, 20ème et 27ème jour après l'infection des images de nécrose et de macrophagie sont rencontrées (Planche V, figure 1). Les premiers stades sont la dilatation des vésicules du réticulum, l'hyperdensité du noyau, puis la lyse des organites cytoplasmiques et la transformation du noyau en une masse homogène vouée à l'englobement par une cellule macrophagique. Il a été observé que plusieurs cellules contiguës étaient frappées de cette altération, alors que dans les bourses de Fabricius des oiseaux témoins, ces formes de nécrose sont très rares.

En dehors de ces cellules tumorales ou non tumorales, nous avons étudié spécialement la structure fine des follicules plumeux de poulets infectés et malades. La pratique des coupes semi-fines (Matériel et Techniques) a permis de bien localiser les coupes fines et par conséquent d'éviter toute confusion.

En comparant avec les poulets témoins, nous pouvons affirmer que les cellules de la pulpe, celles des crêtes barbaires, et celles du derme périfolliculaire, sont normales.

Les cellules de la zone de l'épiderme folliculaire (Planche III, figure 4) ont fait l'objet des observations suivantes :

1°) l'assise germinative de l'épiderme folliculaire ne semble pas altérée.

2°) les 4 ou 5 rangées cellulaires qui constituent, chez les oiseaux, les deux couches externes (couche intermédiaire et couche kératinisée) sont celles qui renferment les particules virales. Leur ultrastructure est modifiée ainsi que le laissait prévoir l'histologie (Planche III, figures 3 et 4). En allant de l'assise germinative jusqu'à l'extérieur on constate une fréquence croissante des dépôts très opaques aux électrons qui sont des fragments de substance kératohyaline, distribués sans ordre dans les cytoplasmes et qui s'agglomèrent mal dans les couches les plus externes.

Les cytoplasmes sont remplis de vésicules ou vacuoles dont certaines sont vides (gouttelettes lipidiques ?); les corps multigranulaires à structure stratifiée sont présents, mais à côté d'eux, on trouve des plages ou inclusions de substance uniformément dense aux électrons. Cette substance non structurée ou très finement granuleuse est qualifiée par la suite substance amorphe ; les plages qu'elle forme sont de tailles variables, de formes arrondies ou en croissant ; les plus petites pourraient être bordées d'une membrane de type réticulaire comme les corps multigranulaires classiques. Les ponts desmosomiques de cellule à cellule sont plus rares que dans le tissu normal.

Les noyaux présentent souvent un aspect normal : dans les couches les plus internes, la chromatine dense peut être rassemblée en une masse centrale (Planche VI, figure 2), sans que cette masse puisse ressembler à une inclusion intranucléaire. Dans les couches plus externes, la chromatine dense est localisée seulement à la périphérie du noyau (Planche VI, figure 1).

L'étude de la bourse de Fabricius précise les aspects de la disparition des cellules lymphoïdes des follicules en régression. Sur des poussins infectés et sacrifiés au 14ème, 20ème et 27ème jour après l'infection des images de nécrose et de macrophagie sont rencontrées (Planche V, figure 1). Les premiers stades sont la dilatation des vésicules du réticulum, l'hyperdensité du noyau, puis la lyse des organites cytoplasmiques et la transformation du noyau en une masse homogène vouée à l'englobement par une cellule macrophagique. Il a été observé que plusieurs cellules contiguës étaient frappées de cette altération, alors que dans les bourses de Fabricius des oiseaux témoins, ces formes de nécrose sont très rares.

En dehors de ces cellules tumorales ou non tumorales, nous avons étudié spécialement la structure fine des follicules plumeux de poulets infectés et malades. La pratique des coupes semi-fines (Matériel et Techniques) a permis de bien localiser les coupes fines et par conséquent d'éviter toute confusion.

En comparant avec les poulets témoins, nous pouvons affirmer que les cellules de la pulpe, celles des crêtes barbaires, et celles du derme périfolliculaire, sont normales.

Les cellules de la zone de l'épiderme folliculaire (Planche III, figure 4) ont fait l'objet des observations suivantes :

1°) l'assise germinative de l'épiderme folliculaire ne semble pas altérée.

2°) les 4 ou 5 rangées cellulaires qui constituent, chez les oiseaux, les deux couches externes (couche intermédiaire et couche kératinisée) sont celles qui renferment les particules virales. Leur ultrastructure est modifiée ainsi que le laissait prévoir l'histologie (Planche III, figures 3 et 4). En allant de l'assise germinative jusqu'à l'extérieur on constate une fréquence croissante des dépôts très opaques aux électrons qui sont des fragments de substance kératohyaline, distribués sans ordre dans les cytoplasmes et qui s'agglomèrent mal dans les couches les plus externes.

Les cytoplasmes sont remplis de vésicules ou vacuoles dont certaines sont vides (gouttelettes lipidiques ?); les corps multigranulaires à structure stratifiée sont présents, mais à côté d'eux, on trouve des plages ou inclusions de substance uniformément dense aux électrons. Cette substance non structurée ou très finement granuleuse est qualifiée par la suite substance amorphe ; les plages qu'elle forme sont de tailles variables, de formes arrondies ou en croissant ; les plus petites pourraient être bordées d'une membrane de type réticulaire comme les corps multigranulaires classiques. Les ponts desmosomiques de cellule à cellule sont plus rares que dans le tissu normal.

Les noyaux présentent souvent un aspect normal : dans les couches les plus internes, la chromatine dense peut être rassemblée en une masse centrale (Planche VI, figure 2), sans que cette masse puisse ressembler à une inclusion intranucléaire. Dans les couches plus externes, la chromatine dense est localisée seulement à la périphérie du noyau (Planche VI, figure 1).

A mesure que les cellules examinées sont situées plus à l'extérieur, la différence s'accentue avec les cellules normales : dans celles-ci, la margination des dépôts de substance kératohyaline fait apparaître une brutale transformation corticale dans la première couche kératinisée. Dans les tissus infectés, les cellules externes se chargent irrégulièrement de dépôts de substance kératohyaline de sorte que la couche kératinisée est plus irrégulière, plus fragile et que dans les zones de rupture, des espaces apparaissent qui sont comblés de débris cellulaires.

Comme nous le verrons plus loin c'est dans les noyaux et les inclusions de substance amorphe que nous trouvons les particules virales de type herpétique. Les altérations de l'épiderme folliculaire peuvent être plus discrètes et malgré cela les cellules décrites présentent des particules virales.

II.- PARTICULES.

La recherche des particules d'aspect viral dans les organes et tissus d'oiseaux infectés s'est poursuivie suivant deux paramètres : l'âge des sujets donneurs toujours infectés à 1 jour et la nature des organes examinés. Tous les prélèvements ont été effectués sur des oiseaux sacrifiés dans les minutes précédentes et non sur des animaux morts depuis longtemps. Les techniques ont été décrites dans Matériel et Techniques.

L'exploitation des images s'est faite sur les photographies ce qui a permis d'éliminer bon nombre d'aspects particulaires pouvant simuler des virus : grains de colorant, vésicules du réticulum endoplasmique, corps multivésiculaires, pores nucléaires, etc... De plus nous n'avons retenu que les éléments de type viral représentés par plus d'un exemplaire dans une série de coupes fines, afin d'éviter la comptabilisation de trop rares éléments à signification incertaine.

Successivement nous rapportons la fréquence de ces virus puis leur morphologie.

a) Fréquence des particules.

Dans le tableau ci-après, nous avons signalé le nombre d'échantillons où la recherche des virus fut positive, en le comparant au nombre d'échantillons étudiés (plusieurs pièces d'un organe ne forment qu'un seul échantillon), et en tenant compte des jours de prélèvement. Au total, 85 organes ont été examinés sur des poulets infectés ou malades, des organes similaires de poulets non infectés ayant servis de témoins.

FREQUENCE DES PARTICULES RETROUVEES SUIVANT L'AGE
ET LES ORGANES DES OISEAUX INFECTES

Jours après inoculation \ Organes examinés	Nerfs	Testicules	Ovaires	Moelle osseuse	Leucocytes	Reins	Poumons	Foie	Rate	B. de Fabricius	Foll. pluméux
2	0/2 ∓					0/2				0/2	
4	0/4					0/2	0/2			0/4	
5										0/1	
6	0/1										
7	0/2										0/1
11	0/2						0/2			0/3	
13	0/1									0/1	
14	0/2										0/1
18										0/1	
20				0/1						1/3	
22								0/2		0/2	
25										1/1	
27	0/5	0/4	0/1	0/5						1/4	
35	0/1		0/1								3/3
49	0/3	0/2		0/1	0/1			0/1	0/1	1/1	0/1
55	0/1		0/1			0/1					0/1
TOTAL DES SUJETS POSITIFS	0/24	0/6	0/3	0/7	0/1	0/5	0/4	0/3	0/1	4/23 [a]	3/7 [b]

. ∓ : nombre de sujets positifs sur nombre de sujets examinés.
. a : particules de type C.
. b : particules de type Herpes.

Dans ce tableau, on voit que 24 échantillons de nerf (plexus sciatique droit) ont été étudiés : aussi bien dans les temps courts (2ème, 4ème, 6ème, 7ème, 11ème, 13ème et 16ème jour) avant ou au début de l'infiltration cellulaire spécifique, que dans les temps longs (27ème, 35ème, 49ème et 55ème jour) où les lésions tumorales sont bien développées, nous n'avons pu déceler de particules virales d'aucun type.

Pour la bourse de Fabricius, 23 échantillons ont été étudiés (2ème, 4ème, 5ème, 11ème, 18ème, 20ème, 22ème, 25ème, 27ème et 49ème jour). 4 d'entre eux contenaient des particules virales (20ème, 25ème, 27ème et 49ème jour) que nous avons classées sous la rubrique : particules de type C.

Pour les follicules plumeux, sur 7 échantillons (7ème, 14ème, 35ème, 49ème et 55ème jour) 3 ont été positifs sur les 3 sujets sacrifiés le 35ème jour. Dans ces cas il s'agit de particules de type Herpès que nous décrirons d'abord. Les 3 sujets positifs de ce groupe sont différents de ceux chez qui les bourses de Fabricius ont été trouvées infectées par des particules de type C.

En examinant la ligne correspondant au 49ème jour (maximum de fréquence de la maladie dans le lot et maximum d'extension des lésions chez les malades) on voit que sur les 11 échantillons d'organes différents nousn'avons pu déceler de particules sur aucun d'entre eux.

La fréquence des particules trouvées est variable avec le type de particules et l'organe qui les héberge.

Pour les <u>follicules plumeux</u>, les particules de type Herpès sont localisées à la zone de l'épiderme folliculaire à l'exclusion de tout autre couche cellulaire de la plume ou de ses annexes.
Les particules sont intracellulaires (noyau ou cytoplasme) et une seule fois, nous avons observé une particule de type cytoplasmique en dehors d'une cellule (Planche VIII, figure 6). Leur fréquence est variable : dans la zone virogène la plus riche, nous avons compté 5 cellules porteuses de particules alors que le secteur folliculaire examiné compte 70 cellules sur chacune des 4 ou 5 couches, soit 280 ou 300 cellules visibles sur une seule coupe fine.

D'autres follicules du même sujet ne laissent voir qu'une cellule infectée sur plus de 200 cellules examinées sur la même coupe fine.

A l'intérieur de chaque cellule infectée, la fréquence des particules virales est très variable puisque dans la même section on peut trouver une cellule avec une seule particule et d'autres avec 6, 8, 10 particules cytoplasmiques ou nucléaires.

Pour <u>la bourse de Fabricius</u>, les particules de type C sont nombreuses à l'extérieur des follicules lymphoïdes tout près des follicules eux-mêmes : elles siègent dans les espaces intercellulaires ou les replis de membranes (Planche IX, figures 1 et 3), dans les cellules endothéliales des capillaires (Planche IX, figure 2), et plus rarement incluses dans des formations vésiculaires dilatées (Planche X, figure 4). Selon les sujets, nous avons trouvé des variations du nombre des particules, soit qu'il soit plus élevé (poulet n°19623 - Expérience 908, 20ème jour) ou plus faible (poulet n° 19819 - Expérience 909, 49ème jour) et du groupement de ces particules; groupement dispersé, (Poulet n° 19623 - Expérience 904, 20ème jour) ou rassemblé (poulet n° 19862 - Expérience 908, 25ème jour).

b) Morphologie des particules.

Nous examinons successivement les 2 types de particules rencontrées : situation vis-à-vis des composants cellulaires, leur forme, leur taille, leur structure et les étapes de leur formation.

Particules de type Herpès des follicules plumeux.

Nous avons déjà signalé qu'elles sont trouvées principalement à l'intérieur des cellules, soit dans le noyau, soit dans le cytoplasme. Dans le noyau, elles sont souvent réparties vers la périphérie et rarement au centre (Planche VI, figure 2) mais à l'écart des mottes chromatiques bordant la membrane. Dans le cytoplasme, des particules ont été observées dans la zone proche d'un noyau, mais aussi dans la substance amorphe décrite plus haut (Planche VI, figure 1) et à l'intérieur du cytoplasme vacuolaire (Planche VI, figure 3). Une même cellule peut montrer des virus à la fois dans le noyau et dans le cytoplasme.

La forme de ces particules est bien définie dans les noyaux. Il s'agit d'objets à contour polyèdrique à 6 côtés. La zone externe simule une paroi d'épaisseur constante (10 nanomètres) et de densité homogène. A l'extérieur, on peut voir quelquefois un halo clair hexagonal (Planche VII, figure 1). Pour les particules cytoplasmiques enrobées dans un grain de substance amorphe, le contour est plus difficilement observable, mais la forme hexagonale est présente (Planche VIII, figure 5), entourée d'un halo clair plus ou moins large et irrégulier.

La taille des particules nucléaires a été mesurée sur les plus nettes d'entre elles en choisissant celles qui sont coupées dans leur plan équatorial. Le diamètre moyen externe est de 116 nanomètres (1160 Angströms) et le diamètre interne moyen est de 96 nanomètres (960 Angströms). Les particules cytoplasmiques sont mesurées par le contour de leur zone condensée dont le diamètre moyen est de 87 nanomètres (870 Angströms). Le diamètre des grains qui les enrobent est de 200 nanomètres avec de grandes fluctuations autour de ce chiffre (180 à 260 nanomètres).

Leur structure interne est très variable. Certaines sont absolument "vides" et réduites à leur zone pariétale alors que les autres montrent une zone dense aux électrons affectant des aspects divers : ruban irrégulier, motte à plusieurs branches, petit core arrondi, anneau secondaire avec centre un peu plus clair, core volumineux uniformément foncé et séparé de la zone pariétale par une zone claire. (Planche VII, figures 1, 3 et 4).

Les particules cytoplasmiques sont toujours très opaques et quelques unes seulement laissent deviner une condensation interne (Planche VIII, figure 6). Une zone pariétale a été observée (Planche VIII, figures 3, 4 et 5).

De la morphologie ultrastructurale on peut difficilement passer à la morphogenèse. Signalons que dans un noyau riche en particules typiques, il existe des grains opaques entourés d'un halo qui ont une dimension voisine des grands nucléoïdes décrits (Planche VII, figure 2). Ces grains sont-ils des précurseurs des virions définitifs ? Il semble plus logique de classer les étapes de la formation des

particules en commençant par celles qui sont optiquement vides, et en associant l'accroissement de la densité de la partie centrale, aux degrés de maturation des virions.

Nous sommes beaucoup plus assurés quant à l'homologation des particules cytoplasmiques : leur contour hexagonal, leur diamètre voisin du diamètre interne de la zone pariétale des particules nucléaires, l'existence de particules cytoplasmiques non enrobées (Planche VII, figure 1) ou au début de leur inclusion (Planche VIII, figure 1) sont des arguments de l'unité des deux aspects particulaires.

Particules de type C des bourses de Fabricius: elles sont retrouvées à l'extérieur des cellules, à l'exception de celles incluses dans une vésicule de type golgien (Planche IX, figure 4) et peut être aussi celles de l'endothélium capillaire (Planche IX, figure 2). Le plus souvent, elles s'alignent le long des membranes cytoplasmiques, parfois en entourant une cellule (macrophage) ou un groupe de cellules.

Leur taille a été appréciée en mesurant les diamètres des particules les plus nettes à la photographie. Comme leur forme est grossièrement sphérique, le diamètre retenu a été la demi-somme de deux axes perpendiculaires. La moyenne d'un grand nombre de ces mesures ne peut être considérée comme la moyenne de la taille des particules, mais seulement comme celle de leur section à différents niveaux au cours de l'ultramicrotomie. Nous avons néanmoins rassemblé les résultats de deux séries de mesures :

1ère série : diamètre moyen apparent : 78 nanomètres (écart-type : 6).

2ème série : diamètre moyen apparent : 88 nanomètres (écart-type : 8).

Le nucléoïde interne présente des dimensions constantes : 32 nm (écart-type : 4) et 34 nm (écart-type : 5) pour les deux séries.

Leur forme est de type sphérique, parfois modifiée par l'inclusion dans les replis membraneux. La limite externe de la capside est constamment présente, et souvent une fine coque s'intercale entre cette limite externe et le nucléoïde central toujours bien marqué. (Planche IX, figures 3 et 5).

Nous n'avons pas fait d'observation quant à la structure fine et à la morphogenèse : nous n'avons pas vu de virus sortant d'une cellule en formant l'image de "budding".

Signalons enfin que dans un cas (poulet 19819 - Expérience 909), à côté de particules de type C, ont été vus deux objets à contour hexagonal, de diamètre de 85 nm, ayant une certaine analogie avec des particules de type Herpès.

DISCUSSION ET COMMENTAIRES :

CHAPITRE I - TRANSMISSION EXPERIMENTALE.

A. Transmission cellulaire.

Nous avons exposé nos résultats dans ce domaine sous la forme d'un tableau groupant les expériences 903, 904, 905, 908, 909. Le commentaire soulignait que les suspensions de leucocytes possèdaient une virulence identique à celle du sang dont elles étaient issues, les analyses statistiques confirmant cette réponse. Pour les hématies isolées, la réponse globale est également la même mais l'analyse fine révèle une profonde diminution du pouvoir pathogène ce qui nous conduit à la conclusion que l'agent virulent est véhiculé par les leucocytes et non par les hématies.

Nous avons souligné le degré de contamination réciproque des inoculums : c'est ainsi que la fraction leucocytaire représentait le quart des leucocytes et le $\frac{1}{13000}$ des hématies du sang, alors que la fraction hématique comptait une fois et demie le nombre des hématies et moins de $\frac{1}{1000}$ des leucocytes (expérience 903). Malgré cela les leucocytes étaient aussi actifs que le sang alors que la fraction hématique, bien que plus riche, était moins virulente. Le même raisonnement valide les autres expériences de ce groupe en limitant l'incidence de l'intercontamination des catégories cellulaires.

Pour l'expérience 905, l'inoculum leucocytaire contient des cellules de l'animal n° 19623 chez lequel des particules de type viral sont observées dans la bourse de Fabricius.

Pour l'expérience 04, l'examen microscopique a révélé l'inefficacité apparente de l'application des ultra-sons. De plus le mode de préparation de l'inoculum conduit à une suspension de cellules diverses, la plupart étant celles de la partie externe du follicule plumeux. La nature et l'origine des cellules de cette fraction sont inconnues en partie et il n'est donc pas possible de comparer les résultats avec les expériences employant le sang ou des cellules sanguines. Mais il faut noter que les trois poulets ayant fourni cet inoculum ont été positifs lors de la recherche des particules de type Herpès dans d'autres follicules plumeux de la même région du corps. D'ailleurs les follicules destinés à l'inoculation ont été lavés avant la dissection afin d'éviter la contamination éventuelle par des particules ambiantes.

Ces résultats personnels sont à ajouter à la liste des travaux sur les inoculations cellulaires : DOYLE (67) rapporte son échec en 1928, mais plus tard viennent les résultats positifs de BLACKEMORE (32), LERCHE et FRITZSCHE (110), SEVOIAN (147), BIGGS et PAYNE (21) (25) (27), VINDEL (163), HORIUCHI (92) avec le sang ou les suspensions tumorales, de EIDSON et Coll.(71) avec des cellules de lavages oraux et rectaux, de KENZY et Coll. (103) avec des fragments de peau tumorale, de BEASLEY et Coll. (13) avec des débris de plumes et de peau.

Mentionnons également le succès des inoculations réalisées à partir de cultures cellulaires : CHURCHILL (51), KOTTARIDIS et Coll. (106), NAZERIAN et Coll.(126), ANDERSON et Coll.(4) (5).

Nous sommes en désaccord avec BIGGS et PAYNE (27) qui n'ont pas trouvé de différence entre les cellules sanguines et ceci nous semble dû à l'intercontamination de leurs catégories cellulaires.

De ces résultats personnels ou autres, sont tirés les commentaires suivants : les cellules inoculées étaient-elles porteuses de caractères spéciaux ? Pour le cas des cellules tumorales ceci est aisé à soutenir, mais non pour les leucocytes du sang qui ne sont pas notés comme modifiés sauf après les travaux de CHO et Coll. (48) qui relèvent des granulations spéciales dans les leucocytes cultivés à partir du sang des oiseaux malades et qu'on sait porteurs de virus. En rangeant toutes ces cellules parmi les cellules tumorales, le problème est posé autrement si l'on suppose ces cellules capables de se transplanter, donc de réaliser une greffe de tumeurs. OWEN et Coll.(130) ont conclu de leurs expériences qu'il ne s'agissait nullement de transplantation puisqu'ils ne retrouvaient pas le caryotype sexuel du donneur dans les tumeurs de l'autre sexe; malheureusement, pour nous, cette expérience ne pouvait conduire qu'à ce résultat puisque les oiseaux n'étaient pas histocompatibles entre eux et par conséquent toute cellule infectée a été l'objet d'une réaction de rejet.

D'autres expériences, utilisant des inoculums cellulaires sont également à examiner d'un oeil critique à cause des réactions du type Graft Versus Host qu'elles entraînent, comme le remarquent BIGGS et PAYNE (24) et Von BÜLOW (35).

Le devenir des cellules infectées n'a pas été étudié. On doit supposer qu'elles sont rapidement reprises par le torrent circulatoire YOFFEY et COURTICE (170), soumises à la macrophagie ou l'empéripolèse (BURNS) (37) avant d'être détruites.

Rappelons également que les cultures cellulaires sont encore inoculées avec des suspensions de cellules sanguines ou tumorales : CHURCHILL (51) (52), NAZERIAN (123), EIDSON et Coll. (73). Là encore le devenir des cellules de l'inoculum n'a pas été étudié malgré les observations d'ANDERSON et Coll. (4) (5).

Nous pensons retenir de ces études que la transmission cellulaire est aisée, qu'elle peut être orientée avec des catégories de cellules diverses, mais que la transplantation tumorale reste encore à prouver.

B. Transmission acellulaire.

Dans le but de montrer la réalité de la transmission acellulaire que beaucoup d'auteurs croyaient impossible, nous avons monté plusieurs expériences (809 - 05 - 06) dont les résultats ont été rapportés. Rappelons que la lyse cellulaire d'un inoculum sanguin (809) conduit à la perte d'une grande partie de la virulence, dont subsiste seulement une partie.

Mais le broyage de leucocytes ne détruit pas leur virulence (05). Le broyat des cellules du follicule plumeux est encore virulent (06) bien que le supercentrifugat ne le soit plus.

Critiquant nos propres expériences, nous remarquons que la vérification a été faite de la non existence de cellules intactes après chacun des traitements. Tout au plus peut-on dire que des fragments cellulaires persistaient dans l'inoculum. Les témoins de contrôle avant éclatement cellulaire étaient également positifs et nous ne pouvons suspecter l'intercontamination de lots parfaitement isolés.

Pour l'expérience 06, la suspension de départ et le premier broyage ont été virulents alors que le surnageant et le culot de supercentrifugation ne l'étaient plus : nous n'avons pas d'explication à donner sauf la longue durée de la manipulation qui a permis l'autodestruction de l'agent virulent.

Confrontant ces résultats avec ceux des autres expérimentateurs, nous relevons qu'ils sont en désaccord avec BIGGS et PAYNE (27) qui jugent que la lyse, le broyage aux ultra sons et la filtration à 0,45 µ font disparaître la virulence et que les résultats positifs cités ailleurs relèvent d'un défaut de l'exclusion cellulaire. Vers la même conclusion s'orientent CHURCHILL et Coll. (51), NAZERIAN et Coll. (126) avec les cultures cellulaires dont les surnageants sont avirulents. Au contraire, SEVOIAN (147) avec un filtrat à 0,45 µ GLASER et Coll.(83) avec des centrifugats, EIDSON et Coll. (72) avec des filtrats, déclarent que le virus est séparable des cellules. COOK (55) (56) annonce la virulence d'extraits filtrés de cultures cellulaires. NAZERIAN et Coll. (125), montre que des extraits de follicules plumeux (broyage et filtration) sont virulents. Ces dernières expériences corroborent nos propres travaux. On doit y ajouter que LEE et ROIZMANN(109), en appliquant des techniques traditionnelles d'extraction aux cultures cellulaires ont pu isoler des particules virales détectées par la microscopie électronique, mais dont le bioessay n'est pas rapporté.

L'ensemble de ces résultats montrant la difficulté de libérer le virus des cellules qui l'hébergent, est à rapprocher des travaux montrant la forte liaison cellulaire de certains virus en particulier de ceux du type Varicelle Zoster. Des arguments ont été avancés pour expliquer cette étroite association "virus-cellule" et en particulier la labilité de l'enveloppe de ces virus de type Herpès (COOK et STEVENS) (58). Cette notion est présentée d'une façon générale par EPSTEIN et Coll. (76) à propos de la maladie de Marek.

Ces travaux, soulignant la fragilité (ou la pauvreté) du virus libre, montrent cependant la possibilité de préparer des fractions virulentes débarrassées de cellules intactes ou de gros fragments cellulaires. Ceci nous conduit à l'abandon du concept "virus associé aux cellules" et permet d'envisager l'isolement absolu de fractions virales actives.

Dans le cadre de la transmission de la maladie naturelle, il est important de noter que la résistance du virus dans le milieu extérieur ne doit plus être considérée comme dépendante de la cellule support.

o
o o

CHAPITRE II - NATURE DES LESIONS.

Dans ce chapître seront discutées :

. les formes néoplasiques
. les autres formes lésionnelles
. la malignité et les métastases.

A. Formes néoplasiques.

L'aspect morphologique et l'établissement des lésions ont fait l'objet d'observations et d'expérimentations dont les résultats sont à rappeler. Les tumeurs nerveuses sont constituées de cellules d'aspect divers : lymphocytes et grandes cellules lymphoïdes pour la plupart. Nous n'avons pas, dans ces éléments, retrouvé d'indications concernant leur caractère tumoral : leur très grande abondance dans des zones très étendues et l'indice de leur activité métabolique intense (mitochondries, ribosomes) sont en faveur de leur nature néoplasique. Mais les mitoses sont peu nombreuses à tous les stades de l'infiltration cellulaire. L'ultrastructure n'a pas apporté la confirmation de ce caractère tumoral. Dans les organes, testicules, ovaires, reins, les tumeurs sont plutôt constituées de grandes cellules lymphoïdes que de petits lymphocytes, tous deux étant absents des tissus normaux. Les néoplasies massives sont plus aisément caractérisées par une infiltration homogène de grandes cellules peu différenciées.

Du point de vue dynamique, les lésions de début ne sont pas du tout de type néoplasique, de même que celles observées sur des oiseaux tardivement atteints. Chez le même individu, dans le même nerf, l'aspect peut aller de la néoplasie massive et franche à l'infiltration légère non significative.

Ce caractère cancéreux aurait pu être apprécié plus aisément si le nombre des mitoses avait été déterminé : si ce nombre nous semble faible c'est probablement à cause de la rapidité des étapes caractéristiques (métaphase et télophase). Nous pouvons mieux affirmer la nature néoplasique des images microscopiques, en remarquant que plus de 90 p. cent des poulets malades, morts ou sacrifiés in extremis, étaient porteurs de tumeurs macroscopiques des nerfs. Pour les tumeurs des tissus et organes, la proportion est plus variable : 15 à 85 p. cent selon les lots.

Cette notion de cancer est évoquée déjà dans les observations de PAPPENHEIMER, DUNN et CONE en 1926. Cet aspect a contribué par la suite à la confusion des tumeurs de la maladie de Marek avec celles des leucoses aviaires. BIGGS et Coll. (30) en 1965 ont distingué des leucoses, les formes néoplasiques viscérales de la maladie de Marek dite "aiguë". PAYNE et BIGGS (135) ont étudié les tumeurs en les rapprochant des sites lymphoïdes "dépendants de la bourse de Fabricius" ou "dépendants des thymus" dans les tumeurs viscérales. Ils indiquent que ces tumeurs sont du type "Bursa dependent". NAKAGAWA (122) trouve que 35 nerfs sur 81 sont nettement néoplasiques, WIGHT (164), classant les types de lésions naturelles en I, II, III, concède que le type III est

néoplasique. PAYNE et BIGGS (135) montrent que le sacrifice de poulets à époques successives permet de voir l'installation de lésions de type A (cancéreux) dès la fin de la deuxième semaine alors que les types B et C sont d'autre nature. OKADA (129) définit deux types de lésions, dont l'un (T) est néoplasique, qui peuvent coexister.
SEVOIAN et Coll. (148) a indiqué que le processus néoplasique débute par l'hyperplasie de la paroi des artérioles dès le quatrième jour. Nous n'avons pas retrouvé personnellement cette particularité.

Rappelant les caractères des tumeurs, OBERLING et BERNHARD (128), BERNHARD et Coll. (18)(19)(20), attirent l'attention sur la difficulté d'attribuer à une cellule l'appellation néoplasique, et ils font justice des différents attributs ou artéfacts qui ont été parfois les critères de la cellule cancéreuse. Les moins équivoques d'entre eux, ont trait à la rapidité de la multiplication et à la tendance au caractère indifférencié.

OWEN et Coll. (130) étudiant le caryotype des cellules des tumeurs indiquent des ruptures sur les grandes paires 1 et 2 de chromosomes, ainsi qu'un faible pourcentage de tétraploïdie, ces deux aspects étant des signes de multiplication rapide.

Ces néoplasies de la maladie de Marek sont à rapprocher des lymphomes humains et animaux et nous verrons plus loin l'analogie avec le lymphome de BURKITT de l'homme. Elles sont distinctes des tumeurs leucosiques (PAYNE) (134) des volailles par leur situation extranerveuse et leur aspect plus homogène.

De cet ensemble de travaux nous devons retenir que la néoplasie est plutôt une constatation macroscopique ou histologique plutôt qu'une évidence cytologique ou ultrastructurale.

B. Autres formes lésionnelles.

Rappelons nos observations de l'attaque spécifique des tissus nerveux et viscéraux.

Dans les nerfs, les cellules de Schwann sont souvent isolées des fibres, arrondies et gonflées. En microscopie électronique, nous avons confirmé ce détachement de la gaine de myéline. Les neurones et leurs axones ne semblent altérés que tardivement. Des plages d'oedème sont fréquement observées ainsi qu'une formation abondante de fibrilles de collagène. Dans les organes, nous avons signalé des dégénérescences non tumorales : reins, bourse de Fabricius et thymus. Nous avons aussi assimilé à des lésions, les altérations des couches cellulaires de l'épiderme des follicules plumeux.

Les cellules d'infiltration comprenaient, en plus des cellules lymphoïdes, des leucocytes hétérophiles, des histiocytes, des plasmocytes et des cellules hyperbasophiles.

L'altération des cellules principales ne pouvait pas être due à des artéfacts puisque la plus grande rapidité et la plus grande minutie ont accompagné les prélèvements nécessaires. Elle ne peut pas être attribuée à une autre maladie spéciale qui aurait pu être observée sur les oiseaux témoins.

Comparant avec les résultats antérieurs, nous retrouvons tout d'abord le travail princeps de MAREK (116) qui caractérise les lésions comme celles d'une polynévrite qu'il juge bon de distinguer de celle du béri-béri (avitaminose B_2). DOYLE (67) porte un diagnostic de polynévrite. LERCHE et FRITZSCHE (110), tenant compte de l'infiltration lymphocytaire et histiocytaire, décrivent les lésions nerveuses comme un granulome. FRITZSCHE (80) les distingue des leucémies. CAMPBELL (41) (42) (43) s'appuie sur le caractère plus inflammatoire que néoplasique pour recommander la distinction d'avec les leucoses, DEUTSCH et SILLER (62) (63), par la microscopie électronique, décrivent les phénomènes inflammatoires. Pour WIGHT (164) (167), les lésions du type II sont sûrement inflammatoires et spécialement, les inflammations de la neurolemme (activation des cellules de Schwann, démyélination) précédent l'infiltration lymphocytaire. Les oedèmes sont fréquents, les mastocytes sont plus abondants (166). Ces caractères, selon WIGHT, sont ceux d'une maladie neuroectodermique primitive avec une réaction cellulaire secondaire. Les relations de WIGHT s'appliquent à des cas spontanés de maladie de Marek dite "classique". Nous remarquons que dans les cas de maladie "aiguë" le caractère tumoral est plus affirmé. PAYNE et BIGGS (135) notent que les lésions de début ne sont pas franchement néoplasiques.

Ces lésions ont été classiquement distinguées des maladies infectieuses neurotropes des volailles, ainsi que des imprégnations toxiniques comme celles des coccidioses (BERGMANN) (17).

Il est opportun de comparer ce tableau lésionnel au seul travail expérimental sur les formes de l'inflammation chez le poulet (CARSON et ALLEN) (46). Traitant de la forme aiguë, CARSON et ALLEN décrivent l'invasion des tissus par une population cellulaire mononucléée (macrophages) et polynucléée (hétérophiles, basophiles) puis son remplacement par une infiltration lymphocytaire qui représente l'élément persistant et dominant de la réaction cellulaire.

La participation des éléments conjonctifs permanents ou occasionnels à l'élaboration des lésions a justifié une tentative de classement des proliférations lymphoïdes par GUILLON et FONTAINE (89), parmi les maladies du mésenchyme. BIGGS (21) (22) étudiant ce problème classe la maladie de Marek parmi les réticuloses.

Nous avons noté que la structure conjonctive des nerfs pouvait expliquer l'extension des lésions. En effet GUNDERSON et LOW (90) montrent que la périnèvre se prolonge loin à l'intérieur des faisceaux de fibres, en formant des manchons autour des vaisseaux.

Les tumeurs ou les infiltrations lymphocytaires sont à distinguer des foyers lymphoïdes normaux, étudiés par LUCAS (42) et OAKBERG (150) et rencontrés dans les zones conjonctives des séreuses, des muqueuses et dans certains organes.

L'hyperplasie des systèmes mésenchymateux est plus difficile à distinguer de l'affection appelée Réticuloendothéliose étudiée par THEILEN (160), maladie virale, très répandue aux Etats-Unis et caractérisée par la prolifération rapide des éléments cellulaires du système réticulé.

Les altérations non tumorales des nerfs, à cause de la présence de cellules particulières (plasmocytes, mastocytes, cellules hyperbasophiles) ont été rapprochées des réactions cellulaires d'immunité. WIGHT (166), VINDEL(163), OKADA(129), défendent ce point de

vue en rangeant la maladie de Marek (forme nerveuse) parmi les maladies auto-immunes. JANKOWIC et Coll.(98), ANTILLON et Coll.(6), PETEK et QUAGLIO(137), SILLER(150) expérimentent, chez le poulet, les polynévrites et encéphalites allergiques où le tableau cellulaire est très proche des infiltrations de la maladie de Marek.

D'autres travaux plus généraux expliquent la formation d'oedèmes, la migration transvasculaire des lymphocytes, la destruction des cellules gliales ; la formation de granulomes (ADAMS et LEIBOWITZ(1), ASTROM et Coll.(7), KOPROWSKI et Coll.(105), SPECTOR et HEESON(154).

Nous voyons que la constatation de processus inflammatoires dans les lésions nerveuses a suscité beaucoup de théories.

Au niveau des autres organes, peu d'observations sont à rattacher à nos résultats. Les atteintes spécifiques des cellules sont décrites seulement par JAKOWSKI et Coll. (96) (97) dans la bourse de Fabricius et le thymus. Ils constatent une nette régression des centres folliculaires où la population lymphoïde disparaît complètement. Cette altération de la bourse de Fabricius est normale lorsqu'elle apparaît à la maturité sexuelle des oiseaux, mais dans la maladie de Marek, JAKOWSKI et Coll. signalent cette régression dès le début de la maladie. Tous les points de leurs observations concordent avec les détails que nous avons décrits.

Dans l'épiderme des follicules plumeux, NAZERIAN et WITTER (125) décrivent des inclusions intranucléaires. Les images invoquées nous semblent plutôt à interpréter comme les modifications normales des couches épidermiques atteintes par la métaplasie kératohyaline. (MATOLTSY) (114).

Si nous tentons de rassembler tous les résultats de ces travaux, il faut constater que l'accord s'est fait sur la réalité de processus de type inflammatoire dans les nerfs, mais que certains auteurs refusent toute forme de néoplasie vraie, alors que d'autres présument le début de la néoplasie dans les premiers signes de l'inflammation. Que l'atteinte du système conjonctif réticulé aboutisse à l'inflammation ou au cancer n'est pas le fait le plus important. Mais la distinction est à faire entre la lésion de type mésodermique représentée par les cellules d'infiltration tumorales ou non, et l'attaque des éléments neuroectodermiques représentés par les cellules de Schwann. Nos travaux ne permettent pas de trancher ce dernier point.

C. Malignité et métastases.

Un caractère commun des cancers est leur malignité et leur propension à développer des métastases à partir d'une tumeur primitive. Les résultats de nos expériences montrent qu'il n'a pas été possible de réaliser des tumeurs primitives localisées aux points d'inoculation : fosses nasales, nerfs, poumons, bourses de Fabricius, peau.

On peut incriminer pour les nerfs la faible dose inoculée (0,01) soit le $\frac{1}{10}$ de la dose habituelle, mais nous savons qu'elle est encore capable de produire la maladie à des doses 1.000 fois plus faibles.

L'inoculation pulmonaire a porté sur des doses habituelles. Dans les bourses de Fabricius nous avons injecté des suspensions concentrées de leucocytes actifs.

On pourrait incriminer le défaut de sensibilité des organes et tissus, sièges de l'inoculation. Mais en dehors des nerfs, les tumeurs pulmonaires sont observées et même les tumeurs de la peau [Skin leukosis de EDGAR (70) de MAAG (113) de KENZY et Coll. (103).].

Nous ne pouvons comparer à aucun autre travail publié sur les tumeurs locales. Il est très important que personne n'ait signalé de tumeur péritonéale alors que la voie expérimentale habituelle est intraabdominale.

Au sujet des métastases, LERCHE et FRITZSCHE (110) affirment que les lésions des nerfs sont primitives, mais admettent que les tumeurs viscérales soient des métastases.

Si nous rapprochons cette absence de tumeur locale des travaux sur les cancers transmissibles, nous en soulignons la singularité. Par exemple, pour le Sarcome de Rous, GUERIN et OBERLING (88) rapportent la facilité d'établissement de tumeurs locales par voie intra-musculaire, sous-cutanée ou intra-dermique. Ils décrivent également les formes ascitiques développées par l'inoculation intra-péritonéale par BATHER, VIGIER.. Ils notent comme singulier l'absence de tumeurs par inoculation intra-veineuse.

La maladie de Marek est donc différente des tumeurs transplantables à virus qui ne manquent pas de créer des lésions locales suivies ou non de tumeurs métastatiques.

CHAPITRE III - NATURE VIRALE DE LA MALADIE.

Successivement, les résultats seront discutés sous trois titres :

A. Dissémination générale dans l'organisme.

B. Virémie des donneurs non porteurs de lésions.

C. Maladie infectieuse.

A. Dissémination générale dans l'organisme.

D'après nos résultats concernant les essais de transmission locale, les oiseaux infectés localement ont manifesté les signes habituels de la maladie : tumeurs des plexus et des organes. Il est clair que l'agent s'est disséminé dans l'organisme, et faute de lésions localisées au point d'inoculation, il a déterminé des lésions en des endroits éloignés. Nous avons noté également la simultanéité d'apparition des signes histologiques dans tous les plexus nerveux à la fois, dans la bourse de Fabricius et dans l'ovaire. Ceci est un autre argument en faveur de la dissémination générale de l'agent virulent.

Cette distribution générale des lésions n'est pas expliquée par une contamination hasardeuse des lots placés chacun dans une enceinte strictement isolée. Nous rappelons ne pas avoir observé de lésions tumorales locales dont les métastases auraient pu coloniser les endroits habituels, bien que les poumons et la peau soient parfois des sites naturels de tumeurs.

Nous pouvons observer également que cette dissémination en foyers multiples ne se fait pas au hasard puisque ce sont presque toujours les nerfs périphériques, les gonades et les autres viscères qui sont dans l'ordre décroissant les plus régulièrement atteints, et qui contiennent vraisemblablement les cellules cibles de la cancérisation.

B. Virémie des donneurs non porteurs de lésions.

Nos résultats font état de transmission précoce à partir de poussins sacrifiés avant le début de la maladie clinique, et montrent que la réussite de la transmission est indépendante de l'âge des donneurs. Ceux-ci sont capables de transmettre la maladie par leur sang, avant et pendant la maladie, que celle-ci soit précoce (expériences 805 et 806) ou tardive (expériences 905 et 906).

Sur les individus donneurs précoces nous avons toutefois noté des infiltrations microscopiques et nous ne pouvons pas dire que ces donneurs étaient indemnes de maladie.

D'autres auteurs rapportent des expériences assez semblables : EIDSON et Coll.(74) sur la virulence du sang de donneurs indemnes, bien que tous les nerfs n'aient pas été examinés, KENZY et CHO(102) à propos de la recherche de porteurs cliniquement indemnes depuis de longs mois.

Il est donc certain que le virus peut s'établir dans le sang et s'y maintenir de façon indépendante du tableau clinique et des lésions. Le virus de la maladie de Marek, comme pour beaucoup de maladies virales, peut se maintenir à l'état inapparent ou latent, ou persistant. D'autres facteurs sont nécessaires à l'éclosion de la maladie tumorale : le caractère plus ou moins pathogène de la souche virale, la sensibilité génétique des oiseaux, la préexistence d'anticorps dans l'organisme, en sont les principaux.

Par analogie nous savons que les porteurs de tumeurs du sarcome de Rous sont virémiques (tumeurs productives) pendant toute la durée de la croissance des tumeurs, tandis que dans le polyome du hamster la virémie précoce disparaît rapidement malgré la croissance tumorale.

C. Maladie infectieuse.

En dehors des résultats spéciaux que nous avons déjà exposés, il a été noté (Matériels et Techniques. D. Techniques d'observation) la constance des désordres d'ordre généraux : anémie, défaut de croissance, irrégularités du plumage. Dès le premier passage de la souche virale, les oiseaux ont présenté ces signes de maladie du 10ème au 15ème jour. Du point de vue des lésions, la régression prématurée de la bourse de Fabricius se voit sur plus de 50 p.cent des oiseaux malades, tandis que celle du thymus est plus rare (20 p.cent). Nous n'avons pas observé ces lésions sur les oiseaux indemnes sacrifiés en fin d'expérience.

Il peut être objecté que ces signes généraux sont la traduction d'une maladie intercurrente. Mais les témoins de contact introduits dans les cages d'oiseaux malades, n'ont jamais montré d'autres manifestations que la maladie de Marek. Dans les lots inoculés avec des produits peu virulents les oiseaux non atteints de la maladie de Marek ne montrent pas d'autres signes. Nous sommes donc contraints de conclure que l'inoculation de l'agent de cette maladie est bien le responsable de tous les signes généraux observés. Ils ne sont pas les suites d'une maladie d'intolérance (Runt disease) qui serait due à l'injection de cellules homologues à des poussins d'un jour à compétence immunitaire incomplète, puisque des extraits acellulaires les provoquent également.

Paradoxalement, peu de relations ont trait à ces observations malgré leur importance. (BLACKEMORE(32), BIGGS et PAYNE(27)). Les signes de paralysie captent davantage l'attention des expérimentateurs. D'autres données biocliniques corroborent cette notion de maladie générale, par exemple l'hypergammaglobulinémie en corrélation avec le développement des lésions et des symptômes spéciaux, (93).

Malgré la précocité de leur apparition les signes généraux ne sont pas indépendants de l'évolution clinique classique. En effet, en même temps qu'eux, nous voyons s'établir les lésions histologiques (7ème et 11ème jour).

Il ne nous est pas possible actuellement d'affirmer qu'il existe une virose primitive ou secondaire dans le tableau clinique de la maladie expérimentale.

CHAPITRE IV. NATURE DE L'AGENT.

Nous discuterons successivement les résultats relatifs aux particules virales : A. de type Herpès.
B. d'autres types.

A. Particules de type Herpès.

Rappelons que nous avons découvert ces particules virales dans les follicules plumeux des 3 poulets malades d'un même lot, sacrifiés au 35ème jour. Au contraire, tous les autres examens de tissus ou d'organes, à différents âges après l'inoculation ont été négatifs. Les particules sont présentes seulement dans l'épiderme bordant la partie implantée de la plume. Dans la même zone, les cellules ont souvent présenté dès signes de vacuolisation excessive et de kératinisation irrégulière.

La forme et la taille des particules nucléaires, leur absence de membrane, nous ont conduit à les identifier comme des virus de type Herpès. Les particules cytoplasmiques ont été vues au sein d'un grain d'une substance dense aux électrons. Leur forme et leur taille nous font dire qu'elles sont analogues aux particules nucléaires.

L'ensemble des virus de type Herpès est radicalement différent des autres particules rencontrées. Le très grand pourcentage de recherches négatives n'est pas l'indication absolue de l'absence complète de ces virus. Nous avons déjà dit ne pas tenir compte des rares sections où une seule particule douteuse était observée : nos résultats s'interprètent donc par défaut. La rareté ou l'absence de particules peut être expliquée par une multiplication périodique ou transitoire, une production faible de virus, un cycle viral conduisant à des formes peu visibles en microscopie électronique (formes "vides"). Néanmoins la grande diversité des organes examinés (tumoraux ou non) à des âges divers (4 jours à 56 jours), aurait pu nous montrer le ou les lieu (x) et l'époque de la multiplication. Au contraire, c'est en un endroit bien précis, au jour le plus favorable pour les formes cliniques, que les poulets se montrent tous positifs. Il semble donc que la multiplication virale herpétique soit limitée dans le temps et dans l'espace sur les animaux qui ont servi à nos travaux.

La recherche de virus de type Herpès dans les tumeurs a été longtemps décevante malgré la constance des résultats après cultures cellulaires. La première relation, celle de SCHLIDOVSKI et Coll.(144), consiste en des particules observées dans le rein tumoral d'un poulet de 4 semaines infecté par contact : les virus sont situés dans le noyau de cellules épithéliales du tube contourné (partie distale) et non dans les cellules lymphoïdes tumorales voisines. Puis NAZERIAN et WITTER(125), CALNEK et Coll.(39) indiquent la présence de virus dans 2 gonades et 1 testicule tumoral, au sein des cellules lymphoïdes, ainsi que les tumeurs nerveuses de rares sujets (noyaux de cellules de Schwann) "exceptionnellement infectés" (CALNEK et Coll.(39)).

Ces derniers retrouvent également des particules virales chez 2 sujets dans la bourse de Fabricius. Au contraire, WIGHT (167) n'observe aucune particule sur 40 sujets atteints de tumeurs des nerfs sciatiques, et nombre d'auteurs, découvrant d'autres particules dans différents tissus ne trouvent pas de particules de type Herpès.

En contraste avec la rareté ou l'absence de ces virus dans les tumeurs, NAZERIAN et WITTER(125), CALNEK et Coll.(39) en soulignent la fréquence dans les follicules plumeux ainsi que nous l'avons montré dans ce travail. NAZERIAN et WITTER trouvent des particules de type Herpès dans les extraits de follicules en accord avec le développement des lésions microscopiques : début au 14ème jour, maximum du 21ème au 35ème jour et plus rarement à 6 et 7 semaines.

Les premières découvertes de virus de type Herpès ont été faites sur des cultures cellulaires de reins de Poulet, (CHURCHILL et BIGGS (51)(52)) ou de fibroblastes (NAZERIAN (124)), NAZERIAN et Coll. (126). Sur ces cultures se développent des plages de foyers syncytiaux différents des foyers de transformation. A côté des particules de type Herpès, EPSTEIN et Coll.(76) trouvent des petites particules qui pourraient être les précurseurs des virus.

Pour compléter ces corrélations citons le travail de LEE et ROIZMAN(109) qui, à partir de cultures cellulaires très infectées, réussissent à isoler des particules de type Herpès dont le contenu Guanine-Cytosine rapproche des Cytomégalovirus.

La morphologie des particules suscite les remarques suivantes : NAZERIAN et WITTER (126) estiment que les formes nucléaires nues sont dépourvues d'activité infectieuse, mais que cette qualité revient aux formes enveloppées qu'ils décrivent comme l'ensemble des particules cytoplasmiques. Or parmi celles-ci nous distinguons les formes apparemment enveloppées par les membranes de la cellule hôte et celles qui sont incluses dans des grains de substance amorphe. Cette dernière forme, que nous avons rencontrée à l'état libre, doit représenter l'élément infectieux alors que les autres particules semblent disparaître avec la kératinisation.

Dans le domaine des tumeurs, une analogie est souvent rapportée avec le lymphome de Burkitt, où s'observent des particules virales de type Myxovirus ou Adénovirus, mais aussi des virus de type Herpès (virus E.B.) qui pourraient être la cause de ces tumeurs.

L'ubiquité des virus du type Herpès est très grande, depuis les mammifères jusqu'aux animaux à sang froid (Sarcome de LUCKE de la grenouille-léopard). Ils sont des commensaux ou peu pathogènes (cytomégalovirus) ou bien très pathogènes et responsables de maladies infectieuses des oiseaux, exemple : laryngo-trachéite infectieuse. Les virus Herpès ont un tropisme pour le système nerveux chez l'Homme (H.simplex et H. de la Varicelle-Zoster) ; chez le chien, un virus de ce type est responsable d'une encéphalite (KAKUK(101), PERCY(136)). Le cheminement du virus herpétique a été étudié (ESCOUROLLE(77)). Le cycle viral n'est pas encore bien connu : les particules ADN prennent naissance dans le noyau et passent dans le cytoplasme à la faveur de tubules (SCHWARTZ et ROIZMAN (145)) et ils s'entourent d'une enveloppe qui serait la condition du pouvoir infectieux (COOK (58) ou transformant (KLEIN et Coll.(104)). Dans le sarcome de LUCKE, le cycle

viral est double : il comprend une phase "productive" avec présence de particules et d'inclusions, et une phase "non productive" avec formation de tumeurs du rein.(GRANOFF(85), STACKPOLE(155)).

Des arguments indirects justifient la présence de virus Herpès dans les organes et tissus des poulets atteints de maladie de Marek. Ainsi la mise en évidence d'antigènes locaux est réalisée par l'immunofluorescence (AHMED et Coll.(3), CALNEK et Coll.(38), PURCHASE(140)(141)).

De la synthèse de ces travaux, nous pouvons être assurés de quelques points :

. un virus de type Herpès est présent dans la maladie de Marek,

. il ne se développe pas avant les signes cliniques (observations personnelles), mais accompagne leur établissement,

. il est relativement rare dans les organes, du moins sous une forme infectieuse,

. la forme infectieuse serait une particule enrobée (type cytoplasmique) et non simplement enveloppée (NAZERIAN, CALNEK),

. le virus pourrait être responsable d'une action cytocide (follicules plumeux) limitée par la métaplasie kératohyaline,

. dans les tumeurs, sa présence est trop contestée pour que ses formes visibles puissent être considérées comme les agents de la néoplasie.

B. Autres particules.

Des particules analogues à celles décrites sous le nom de particules C dans les leucémies murines, ont été rapportées dans la bourse de Fabricius de 4 poulets à l'exclusion d'autres tissus ou organes.

Une critique analogue à celle évoquée pour les particules Herpès peut être développée quant à la rareté des réponses positives et à la valeur des réponses négatives.

La relation entre la présence des particules et l'état de la maladie n'est pas prouvée par ces résultats : ainsi, au 20ème jour, des particules sont trouvées sur le poulet n° 19623, ne montrant pas de signes cliniques et avec une image histologique normale de la bourse de Fabricius, alors que celle-ci est profondément altérée sur le poulet n° 19643 du même lot. Mais pour les autres cas, la présence de particules est concomittante des signes de maladie.

Les virus observés pourraient être des virus du groupe des leucoses aviaires, mais la souche HPRS 16 employée a été purifiée par passages sur cultures cellulaires C/AB résistantes aux leucoses (P.M. BIGGS, communication personnelle), et les poussins de l'expérimentation proviennent de parents qui se sont révélés indemnes de leucoses.

Nous n'avons pas trouvé d'autres formes pour ces particules et en particulier, aucune image analogue aux différents stades morphogénétiques des virus de la tumeur mammaire décrits par THOMAS et Coll. (162) ou discutés par SARKAR et Coll.(142) , MIROFF et LAMBERSON(121).

Des particules semblables ont été observées par de nombreux auteurs qui les ont rapprochées des particules C des leucémies murines et félines : (BERNHARD(18), et DMOCHOWSKI(65)). CAMPBELL(44) dans les leucocytes du sang, GLASER(83) dans les culots de centrifugation du sang, COOK(56) après inoculation de sang sur les cultures cellulaires, NAKAGAWA(122) dans les tumeurs viscérales, OKADA(129) dans les tumeurs nerveuses, SIMPSON(151-152) dans les nerfs de l'oeil chez les poulets montrant de l'iritis, signalent la présence de ces particules. Dans les follicules plumeux eux-mêmes, CALNEK et Coll.(39) retrouvent ces virus qu'ils attribuent à la contamination de leur souche JM par un virus leucosique de type A.

Il est opportun de rappeler que des particules virales de ce type ont été rencontrées au hasard d'autres expérimentations, sur des tissus normaux : BENEDETTI et BERNHARD(14), BENEDETTI et Coll.(15), CROMACK(60), KAJIMA(100). Elles sont présentes également dans les tissus infectés par les virus leucosiques (De THE)(158), (GAZZOLO et Coll.)(82) ou les tumeurs (De PETRIS et HARVEY)(138), mais aussi dans les tissus de poulets indemnes de virus infectieux leucosiques (DOUGHERTY et Coll.)(66), (Di STEFANO et DOUGHERTY)(156). Ce dernier point est à rapprocher des virus isolés de certaines souches de maladie de Marek par COOK(56), BANKOWSKI(11).

Les particules de type C leucémogènes sont régulièrement impliquées dans les tumeurs murines (BOIRON et HAMPE)(33), mais aussi dans la leucémie des chats (THEILEN et Coll.)(160-161). Des particules identiques sont décrites dans la leucose bovine (MILLER et Coll.)(120).

De l'ensemble des travaux rapportés il est possible de dire :

. que les particules de type C sont souvent associées aux tumeurs transmissibles et que leur présence dans les oiseaux atteints de maladie de Marek n'est pas pour étonner a priori. Mais leur rôle est moins clair lorsqu'on les constate sur des tissus apparemment normaux,

. que les lésions de la maladie de Marek ne sont pas toutes du type néoplasique et alors il faut attribuer à ces particules C une action inflammatoire (nerfs) ou cytocide (bourse de Fabricius).

0
0 0

CONCLUSIONS GENERALES

Dans cette partie nous avons groupé les principaux aspects du travail entrepris sur la transmission expérimentale de la maladie de Marek :

. Les objectifs et les moyens
. Les résultats.

A. LES OBJECTIFS ET LES MOYENS.

La maladie de Marek est une maladie des Oiseaux, contagieuse, transmissible, qui se traduit par des tumeurs de certains organes (nerfs, gonades, viscères,...). Depuis longtemps on en a soupçonné la nature virale sans en apporter de preuves. Son importance économique actuelle explique l'ampleur des travaux récents, mais son intérêt scientifique comme néoplasie à virus justifie les recherches fondamentales les plus approfondies.

La nature et le mode d'action de l'agent responsable sont les problèmes principaux à résoudre. C'est à quelques aspects d'entre eux que nous consacrons nos efforts.

Les moyens mis à notre disposition nous permettent de mettre sur pied un programme de transmission expérimentale. La souche anglaise HPRS 16 est choisie pour infecter des poussins d'un jour, indemnes de la plupart des infections, et placés dans de strictes conditions d'isolement. Les essais sont pratiqués "in vivo".

Les poussins sont inoculés de produits virulents cellulaires ou acellulaires par différentes techniques ou voies expérimentales. Ils sont constamment surveillés pour juger de leur comportement clinique. Tous les animaux morts ou sacrifiés en fin d'expérimentation sont examinés en détail pour dépister les lésions et leurs tissus servent de matériel aux recherches sur l'histologie, la cytologie, et l'ultrastructure des cellules ou des particules.

B. RESULTATS.

I.- Transmission expérimentale. Ce chapître résume les résultats des transmissions cellulaires et acellulaires.

La transmission cellulaire est facile et efficace. Elle dépend des catégories de cellules injectées puisque dans le sang, les leucocytes sont beaucoup plus actifs que les hématies. Les suspensions des parties externes des follicules plumeux sont virulentes. Mais la transmission cellulaire ne doit pas être considérée comme la cause d'une transplantation de tumeur puisque les cellules injectées sont vraisemblablement détruites par la réaction de rejet.

La transmission acellulaire est démontrée par l'activité d'inoculums ne comportant pas de cellules intactes. Ceci corrobore les résultats obtenus par quelques auteurs avec d'autres techniques. Nous pouvons donc abandonner le concept de "virus strictement associé aux cellules" qui justifiait l'emploi d'inoculum cellulaire et qui laissait peu d'espoir pour l'étude d'un virus isolé.

La nature virale de l'agent se trouve confirmée.

II.- Renseignements de l'histologie et de l'étude ultrastructurale.

La morphologie des cellules cancéreuses est recherchée par les moyens classiques. C'est l'histologie qui reste la technique la plus sûre actuellement pour confirmer le caractère néoplasique, alors que la microscopie électronique n'apporte pas de renseignements fidèles à ce sujet.

Avec les lésions néoplasiques ou en dehors d'elles, se développent des lésions de dégénérescence de certains éléments cellulaires: cellules de Schwann des fibres nerveuses, cellules lymphoblastiques de la bourse de Fabricius et du thymus. De plus, certains aspects histologiques, confirmés par l'ultrastructure, sont très proches des "inflammations" du tissu conjonctif par la présence de cellules mononucléées analogues à celles de l'inflammation expérimentale et par la production d'oedèmes et de fibres collagènes. Mais ces lésions ne sont pas celles d'une action directe du virus puisqu'il n'est pas trouvé de particules virales dans ces tissus ou ces cellules. Elles sont donc la traduction d'une action indirecte de la multiplication virale qui peut être pour les organes lymphogènes une régression hormonale, et pour les nerfs une maladie d'auto-immunisation.

La profonde aplasie du thymus et de la bourse de Fabricius est un signe de dépression immunitaire qui favorise habituellement le développement des néoplasies.

L'impossibilité est démontrée de provoquer localement des tumeurs,(nerfs, poumons, peau, bourse de Fabricius). Ecartant l'hypothèse que les cellules ne sont pas sensibles au moment de l'inoculation, il faut dire que l'agent viral ne possède pas alors de pouvoir oncogène pour ces cellules, et qu'il a besoin de se modifier ou de se multiplier avant de rencontrer ailleurs une cellule "cible" capable d'être transformée en cellule tumorale.

III.- Nature virale de la maladie.

La dissémination dans l'organisme est étayée par nos observations, mais nous ne savons pas pourquoi certains tissus sont atteints de préférence. Il existe une virémie précoce des oiseaux non porteurs de lésions, comparable à celle des oiseaux tardivement affectés. Cette virémie est indépendante des lésions, comme cela a été retrouvé sur des troupeaux naturellement contaminés. La maladie de Marek n'est pas seulement une maladie tumorale mais elle est aussi une maladie générale, d'allure infectieuse, bien que celle-ci ne puisse être dissociée de l'évolution néoplasique.

IV.- Agent viral.

Deux types de particules sont observées : le type Herpès (3 fois) et le type leucémique (4 fois) sur 85 organes examinés. Les particules de type Herpès ne sont jamais trouvées ailleurs que dans les follicules plumeux dans un site très limité, celui de l'épiderme folliculaire. Elles sont nucléaires et alors elles ont la forme classique à capside hexagonale avec un core variable. Elles sont aussi cytoplasmiques et incluses dans un grain de substance amorphe qui les protège au cours de la kératinisation alors que les formes nues ou entourées de membranes ne sont plus visibles. Cette forme enrobée pourrait représenter la forme infectieuse, résistante aux conditions naturelles et responsable de la transmission aérienne.

Les particules de type leucémique (particules C) n'ont été trouvées que dans la bourse de Fabricius à différents âges et jamais dans les autres organes. Aucune indication n'a été relevée sur les stades précurseurs de ces particules.

La signification des éléments viraux est discutée. Les particules de type Herpès, à virus ADN, sont d'ordinaire à tropisme ectodermique. Elles se multiplient dans leurs tissus d'élection, créant des désordres inflammatoires, à moins qu'elles ne déterminent des infections latentes ou inapparentes. Leur propriété oncogène est affirmée seulement dans le lymphome de BURKITT de l'homme et le sarcome de LUCKE de la grenouille. Dans le modèle expérimental de la maladie de Marek, les virus Herpès se multiplient dans les follicules plumeux (origine ectodermique) sans provoquer de tumeurs, mais semblent très rares dans les tumeurs lymphoïdes (origine mésodermique) bien que les cultures cellulaires inoculées avec ces tumeurs contiennent ces particules de type Herpès.

Notre conclusion se restreint donc à l'affirmation que la forme herpétique multipliée dans les follicules, et excrétée sous une forme de résistance, est capable de disséminer la maladie. Il n'est pas assuré qu'elle soit capable de rendre néoplasiques les éléments lymphoïdes du mésoderme.

Les particules de type C à virus ARN sont fréquemment observées dans les tumeurs de type leucémique de plusieurs espèces animales. Elles ont toujours un tropisme mésodermique. Mais dans la maladie de Marek leur absence des follicules plumeux est un argument contraire à un rôle dans la contagion. Toutefois, à cause de leur ubiquité chez les oiseaux (formes latentes ou inapparentes), et de leur caractère d'être très souvent associées aux cellules tumorales, il ne faut pas négliger tout signe de leur présence.

Dans l'expérimentation rapportée, l'hypothèse que les particules C ne soient que des virus passagers ne peut être complètement écartée, mais leur rôle oncogène peut etre envisagé.(HUEBNER (94,95)).

Les observations minutieuses n'ont pas permis de découvrir d'autres particules ou éléments capables d'être retenus comme la cause unique de la maladie de Marek, ce qui n'exclut pas totalement une forme virale "masquée". Il n'est pas suspecté d'agent analogue à la tremblante (scrapie) des moutons (PATTISON (133)).

La discussion est donc circonscrite aux deux seuls types de virus décrits : virus de type Herpès et virus de type leucémiques. Quatre hypothèses sont à envisager :

1°) aucune des particules n'est l'agent de la maladie de Marek.

2°) les virus de type leucémiques sont les seuls agents.

3°) les virus de type Herpès sont les seuls agents.

4°) les deux types de virus sont nécessaires à la transmission de cette maladie.

L'hypothèse (1) est la moins vraisemblable actuellement, à moins de découvrir des formes virales absolument inconnues.

2) La seule action des particules C est peu probable : en effet les sites de multiplication découverts laissent mal imaginer les formes virales d'excrétion, responsables de la contagion. Il faudrait que d'autres facteurs interviennent pour que l'infection soit à la fois "productive" (produisant du virus) et "transformante" (déterminant des tumeurs).

3) L'action oncogène des particules de type Herpès est plus solidement étayée par la découverte des formes contagieuses et par des arguments tirés d'autres travaux : présence dans les cultures de cellules inoculées par des cellules tumorales et corrélation entre leur taux de multiplication et l'infectivité, protection spécifique des poulets avec un vaccin à base de virus de type Herpès du dindon.

4) L'hypothèse de l'association des 2 types de particules serait capable de rendre compte de la plupart des phénomènes de la virose et de la néoplasie. Néanmoins, il nous a manqué de trouver la présence simultanée des deux virus, pour imaginer des actions cocarcinogènes réciproques.

C'est donc au virus de type Herpès qu'il convient pour le moment de rapporter le déclenchement de cette néoplasie à virus.

Le virus, agent de la maladie de Marek exerce son action de 3 façons :

1°) sur les cellules permissives des follicules plumeux en s'y multipliant et en créant pour l'organisme une source chronique et permanente de surinfection,

2°) en suscitant des lésions de dégénérescence, d'inflammation à distance et de dépression immunitaire,

3°) en déclenchant la cancérisation des cellules lymphoblastiques.

En résumé, dans ce travail expérimental, nous avons montré que la maladie de Marek des volailles présentait des caractères particuliers. C'est une néoplasie par l'anatomie et l'histologie, mais avec des signes et des lésions d'infiltrations inflammatoires et de dégénérescences spécifiques. Nous avons vu également la régression des tissus lymphogènes, ce qui diminue l'immunité vis-à-vis des cellules anormales ou étrangères. C'est aussi une maladie virale par la transmission acellulaire à distance d'agents (virus) non nécessairement liés aux cellules, et par la production de formes virales infectieuses mais rares dans les tumeurs des organes.

Deux types de particules (type C et type Herpès) ont été observées. Les arguments développés appuient l'étiologie herpétique plutôt que leucémique, qui rend mieux compte des aspects de contagion et du caractère inflammatoire des lésions, mais qui ne fait pas la preuve de son pouvoir oncogène direct.

Pour la biologie cellulaire normale et cancéreuse, la maladie de Marek représente un modèle complexe par une participation cellulaire variée, tumorale ou non, par des signes de virose contagieuse et transmissible, par une dépression importante des systèmes immunitaires, par la nature des éléments viraux rencontrés.

Cette étude renforce la conception de l'étiologie virale du cancer et souligne la multiplicité des actions cellulaires intervenant dans cette maladie.

B I B L I O G R A P H I E

(1) ADAMS(C.W.M.) LEIBOWITZ(S.). 1969.- The general pathology of demyelinating diseases. In : "The STRUCTURE & FUNCTION OF NERVOUS TISSUE", Vol.3. Biochemistry & disease. G.H. Bourne éd., Chap. 8.- New York, Academic Press, pp. 309-382.

(2) AHMED(M.) SCHIDLOVSKY(G.). 1968.- Electron microscopic localization of herpesvirus type particles in Marek's disease.- J.Virol., 2(12), 1443-1457.

(3) AHMED(M.) JENSEN(K.E.) SLATTERY(S.M.) LEECH(J.B.).-1970.- Detection of Marek's disease Herpes virus antigen by fluorescent and coating antibody.- Avian Dis., 14(2), 349-363.

(4) ANDERSON(K.) SEVOIAN(M.). 1969.- Morphological description of cell cultures containing a type II (Marek's) leukosis virus (JM STRAIN).- Avian Dis., 13(3), 470-485.

(5) ANDERSON(K.) SEVOIAN(M.). 1969.- Bioassay of cell cultures containing a type II leukosis virus (JM STRAIN).- Avian Dis., 13(3), 486-500.

(6) ANTILLON(A.) HELMBOLDT(C.F.) FREDRICKSON(T.N.). 1968.- Comparative studies of experimental allergic encephalitis and Marek's disease.- J.Am.vet.med.Ass., 152(9), 1352.

(7) ASTROM(K.E.) DE WEBSTER(Henry F.) ARNASON(Barry G.). 1968.- The initial lesion in experimental allergic neuritis. A phase and electron microscopic study.- J.exp.Med., 128(3), 469-496.

(8) AULISIO(C.G.) SHELOKOV(A.). 1969.- Prevalence of reticuloendotheliosis in chickens : immunofluorescence studies.- Proc.Soc.exp.Biol.Med., 130(1), 178-181.

(9) AYCARDI(J.) SCHELLENBERG(P.). 1970.- Principes et techniques de l'élevage orthoxénique : application à l'aviculture industrielle. 38ème Session générale du Comité de l'O.I.E., Rapport N°130.32p.

(10) BAER(G.M.). 1969.- Effects of viruses on nerves. in :"THE STRUCTURE AND FUNCTION OF NERVOUS TISSUE". Vol.3 : Biochemistry & Disease. G.H.Bourne, Ed., Chap.11. Acad.Press, 1969.pp.519-536.

(11) BANKOWSKI(R.A.) MOULTON(J.E.) MIKAMI(T.). 1969.- Characterization of Cal-1 strain of acute Marek's disease agent.- Am.J.vet.Res., 30(9), 1667-1676.

(12) BAXENDALE(W.). 1969.- Preliminary observations on Marek's disease in ducks and other avian species.- Vet.Rec., 85, 341-342.

(13) BEASLEY(J.N.) PATTERSON(L.T.) McWADE(D.H.). 1970.- Transmission of Marek's disease by poultry house dust and chicken dander.- Am.J.vet.Res., 31(2), 339-344.

(14) BENEDETTI(E.L.) BERNHARD(W.). 1957.- Présence de particules d'aspect virusal dans la rate d'embryons de poulets normaux.- Cptes ren.hebd.Séanc.Acad.Scis, Sér.D, 244, pp.2204-2206.

(15) BENEDETTI(E.L.) BERNHARD(W.) OBERLING(C.). 1956.- Présence de corpuscules d'aspect virusal dans des cellules spléniques et médullaires de poussins leucémiques et normaux.- Cptes ren.hebd.Séanc.Acad.Scis, Sér.D, 242, pp.2891-2894.

(16) BENTON(W.J.) COVER(M.S.). 1957.- The increased incidence of visceral lymphomatosis in broiler and replacement birds.- Avian Dis., 1(3), 320-327.

(17) BERGMANN(Von V.) JUNGMANN(R.). 1968.- Untersuchungen zum Auftreten von Gewebsveränderungen im Zentralnervensystem bei der Kokzidiose der Hühnerküken.- Mh.VetMed., 47(11), 1951-1962.

(18) BERNHARD(W.). 1958.- Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses.- A review.- Cancer Res., 18, 491-509.

(19) BERNHARD(W.). 1969.- Ultrastructure of the cancer cell. in : "HANDBOOK OF MOLECULAR CYTOLOGY". LIMA-DE-FARIA(A.) ed., Part.IX, pp.687-715.

(20) BERNHARD(W.) GRANBOULAN(N.). 1963.- The fine structure of the cancer cell nucleus.- Expl Cell Res., Suppl.9, 19-53.

(21) BIGGS(P.M.). 1962.- Some observations on the properties of cells from the lesions of Marek's disease and lymphoid leukosis. in :"ANIMAL HEALTH AND PRODUCTION".London-Butterworths, GRUNSELL & WRIGHT ed., pp.83-99.

(22) BIGGS(P.M.). 1961.- A discussion on the classification of the avian leukosis complex and the fowl paralysis.- Br.vet.J., 117, 326-334.

(23) BIGGS(P.M.). 1967.- Marek's disease. (Congress paper) .-
Vet.Rec., 81(23), 583-592.

(24) BIGGS(P.M.) PAYNE(L.N.). 1961.- Pathological changes following the inoculation of chick embryos with adult cells.
I.- Spleen cells.
II.- Blood cells.-
Immunology, 4(1), 24-37 & 38-48.

(25) BIGGS(P.M.) PAYNE(L.N.). 1963.- Transmission experiments with Marek's disease (fowl paralysis).-
Vet.Rec., 75(7), 177-179.

(26) BIGGS(P.M.) PAYNE(L.N.). 1965.- Relationship of Marek's disease (Neural lymphomatosis) to lymphoid leukosis.-
Natn.Cancer Inst.Monogr., (17), 83-98.

(27) BIGGS(P.M.) PAYNE(L.N.). 1967.- Studies on Marek's disease.
I.- Experimental transmission.
J.nant.Cancer Inst., 39(2), 267-280.

(28) BIGGS(P.M.) PAYNE(L.N.). 1967.- The avian leucosis complex.-
Vet.Rec., 80(16), Clinical suppl.n°7, Poultry and the practitioner, v-vii.

(29) BIGGS(P.M.) CHURCHILL(A.E.) ROOTES(D.G.) CHUBB(R.C.). 1968.-
The etiology of Marek's disease - an oncogenic Herpes-type virus. in :"PERSPECTIVES IN VIROLOGY". VI.- Virus induced immunopathology. POLLARD(M.)ed.-Chap 14, pp.211-238.

(30) BIGGS(P.M.) PURCHASE(H.G.) BEE(B.R.) DALTON(P.J.). 1965.-
Preliminary report on acute Marek's disease (fowl-paralysis).-
Vet.Rec., 77(45), 1339-1340.

(31) BIGNAMI(A.) BECK(E.) PARRY(H.B.). 1970.- Neurosecretion-like material in the hindbrain of ageing sheep and sheep affected with natural scrapie.-
Nature, 225(5228), 194-196.

(32) BLAKEMORE(F.). 1939.- The nature of fowl paralysis (neurolymphomatosis).-
J.comp.Path.Ther., 52, 144-159.

(33) BOIRON(M.) HAMPE(A.). 1968.- Les virus leucémogènes.-
Path.Biol., 16(1/2), 87-92.

(34) BROWN(J.) DAWE(D.L.) DAVIS(R.B.). 1969.- Types of lesions of Marek's disease causing condemnations in broilers at a processing plant. (Abstr.).-
Poult.Sci., 48(5), 1790-1791.

(36) BULOW(V.von). 1969.- Marek'sche Hühnerlähmung : Reaktionen im experimentell infizierten embryonierten Ei.- Zentbl.VetMed., 16(2) ReiheB., 97-114.

(36) BULOW(V.von) PAYNE(L.N.). 1970.- Direkter Immunofluoreszenz-Test bei der Marek'schen Krankheit.- Zentbl.VetMed., 17(4), Reihe B., 460-478.

(37) BURNS(E.R.). 1967.- Tumor cell-tumor cell emperipolesis.- Expl Cell Res., 48(1), 229-231.

(38) CALNEK(B.W.) HITCHNER(S.B.). 1969.- Localization of viral antigen in chickens infected with Marek's disease Herpesvirus.- J.natn.Cancer Inst., 43(4), 935-950.

(39) CALNEK(B.W.) UBERTINI(T.)ADLDINGER(H.K.). 1970.- Viral antigen, viral particules and infectivity of tissues from chickens with Marek's disease.- J.natn.Cancer Inst., 45, 341-351.

(40) CAMPBELL(J.G.). 1954.- Avian leucosis : a plea for clarification.- 10th World's Poultry Congress. Section C.N°59, pp.193-197.

(41) CAMPBELL(J.G.). 1956.- Leucosis and fowl paralysis compared and contrasted.- Vet.Rec., 68, 527-528.

(42) CAMPBELL(J.G.). 1958.- Recent investigations on avian leucosis and fowl paralysis.- Vet.Rec., 70, 64-67.

(43) CAMPBELL(J.G.). 1961.- A proposed classification of the leucosis complex and fowl paralysis.- Br.Vet.J., 117, 316-325.

(44) CAMPBELL(J.G.). 1966.- Electron microscopic studies of blood cells in Marek's disease.- Ann.Rep.Br.Emp.Cancer Campaign., 44(Part II), pp.309-310.

(45) CAMPBELL(J.G.) APPLEBY(E.C.). 1966.- Tumours in young chickens bred for rapid body growth (broiler chickens) : a study of 351 cases.- J.Path.Bact., 92, 77-90 + 8 plates.

(46) CARLSON.(H.C.) ALLEN(J.R.). 1969.- The acute inflammatory reaction in chicken skin : blood cellular response.- Avian Dis., 13(4), 817-833.

(47) CAUCHY(L.). 1970.- La maladie de Marek des volailles. Discussion sur la vaccination.- Recl Méd.vét.Ec.Alfort, 146, 481-488.

(48) CHO(B.R.) KENZY(S.G.) KIM(U.H.). 1968.- Atypical cells in the peripheral blood of chickens exposed to Marek's disease agent.-
Can.J.comp.Med., 32(4), 562-567.

(49) CHUBB(R.C.) CHURCHILL(A.E.). 1969.- Effect of maternal antibody on Marek's disease.-
Vet.Rec., 85(11), 303-305.

(50) CHURCHILL(A.E.). 1968.- Herpes type virus isolated in cell culture from tumors of chickens with Marek's disease. I.- Studies in cell culture.-
J.natn.Cancer Inst., 41, 939-950.

(51) CHURCHILL(A.E.) BIGGS(P.M.). 1967.- Agent of Marek's disease in tissue culture.-
Nature, 215(5100), 528-530.

(52) CHURCHILL(A.E.) BIGGS(P.M.). 1968.- Herpes-type virus isolated in cell culture from tumors of chickens with Marek's disease. II.- Studies in vivo.-
J.natn.Cancer Inst., 41(4), 951-956.

(53) COLE(R.K.). 1967.- Selection for resistance to Marek's disease by use of the J.M. virus.-
Poult.Sci., 46, 1246.

(54) COLE(R.K.). 1968.- Studies on genetic resistance to Marek's disease.-
Avian Dis., 12, 9-28.

(55) COLWELL(W.L.) LUKERT(P.D.) EIDSON(C.S.). 1969.- Organ culture studies of Marek's disease.-
J.Am.vet.Med.Ass., 154(11), p.1420.

(56) COOK(M.K.). 1969.- Cultivation of a filterable agent associated with Marek's disease.-
J.natn.Cancer Inst., 43(1), 203-212.

(57) COOK(M.K.) SEARS(J.F.). 1970.- Preparation of infectious cell-free Herpes-type virus associated with Marek's disease.-
J.Virol., 5(2), 258-261.

(58) COOK(M.L.) STEVENS(J.G.). 1968.- Labile coat : Reason for noninfectious cell-free varicella-zoster virus in culture.-
J.Virol., 2(12), 1458-1464.

(59) CRAWFORD(L.V.). 1969.- Nucleic acids of tumor viruses.-
Adv.Virus Res., 14, 89-152.

(60) CROMACK(A.S.). 1968.- An electron microscope study of virus-like particles in chick embryo and L cell cultures.- J.gen.Virol., 2(1), 195-198.

(61) DENT(P.B.) GABRIELSEN(A.E.) COOPER(M.D.) PETERSON(R.D.A.) GOOD(R.A.).- 1968.- The secondary immunologic deficiency diseases associated with lymphoproliferative disorders. in :"TEXBOOK OF IMMUNOPATHOLOGY". Vol.I, pp.406.

(62) DEUTSCH(K.) SILLER(W.G.). 1960.- The peripheral nerves in fowl paralysis. Proc.Europ. Reg. Conf on Electron microscopy, Delft, 2, 807-809

(63) DEUTSCH(K.) SILLER(W.G.). 1961.- An electron microscopical study of the peripheral nerves in two cases of fowl paralysis (Neurolymphomatosis). Res.vet.Sci., 2(1), 19-21.

(64) DHINGRA(L.D.) PARRISH(W.B.) VENZKE(W.G.). 1969.- Electron microscopy of granular leukocytes of chicken (Gallus domesticus). Am.J.vet.Res., 30(4), 637-642.

(65) DMOCHOWSKI(L.). 1960.- Viruses andtumors in the light of electron microscope studies : A review. Cancer Res., 20, 978-1015.

(66) DOUGHERTY(R.M.) Di STEFANO(H.S.) ROTH(F.K.). 1967.- Virus particles and viral antigens in chicken tissues free of infectious avian leukosis virus.- Proc.natn.Acad.Sci.U.S.A., 58, 808-817.

(67) DOYLE(L.P.). 1928.- Neuritis or paralysis in chickens.- J.Am.vet.med.Ass., 72, 585-587.

(68) DULBECCO(R.). 1965.- Characteristics of virus-cell complexes. Am.J.Med., 38, 669-677.

(69) DULBECCO(R.).1967.- The induction of cancer by viruses. Scient.Am., 216 (4), 28-38.

(70) EDGAR(S.A.). 1968.- A study of carcasses condemned for skin leukosis. Poult.Sci., 47(5), p.1667.

(71) EIDSON(C.S.) SCHMITTLE(S.C.). 1968.- Studies on acute Marek's disease. V.- Attempted transmission of isolate GA with feces and nasal washings.- Avian Dis., 12(3), 549-553.

(72) EIDSON(C.S.) SCHMITTLE(S.C.). 1969.- Filtration of the GA isolate of Marek's disease.-
J.Am.vet.Med.Ass., 154(11), p.1419.

(73) EIDSON(C.S.) RICHEY(D.J.) SCHMITTLE(S.C.). 1969.- Studies on acute Marek's disease. XI.- Propagation of the GA isolate of Marek's disease in tissue culture.-
Avian Dis., 13(3), 636-653.

(74) EIDSON(C.S.) SCHMITTLE(S.C.) SILBERMAN(M.S.). 1968.- Studies on acute Marek's disease. III.- Lesion versus nonlesion donor birds.-
Avian Dis., 12(3), 543-548.

(75) ENBERGS(H.von) KRIESTEN(K.). 1968.- White blood cells of the fowl as seen by electron microscopy.-
Dt.tierärztl.Wschr., 75, 271-274.

(76) EPSTEIN(M.A.) ACHONG(B.G.) CHURCHILL(A.E.) BIGGS(P.M.). 1968.- Structure and development of the herpes-type virus of Marek's disease.-
J.natn.Cancer Inst., 41(3), 805-820.

(77) ESCOUROLLE(R.). 1969.-
Le cheminement du virus herpétique le long des nerfs périphériques.-
Presse méd., 77(47), 1732.

(78) FLOERSHEIM(G.L.) SEILER(K.). 1967.- Differential effects of immunosuppressive drugs on a cutaneous graft-versus-host reaction in chickens.
Transplantation, 5(6), 1355-1370.

(79) FOA(R.) FOA(C.) MURATORE(R.). 1969.- Aspect ultrastructural particulier du réticulum endoplasmique dans un cas de leucémie lymphoïde chronique.-
Nouv.Revue fr.Hématol., 9(6), 795-802.

(80) FRITZSCHE(L.). 1939.- Ist die Mareksche Hühnerlähmung eine form der Hühnerleukose ?
Z.InfektKrankh.parasit.Krankh.Hyg.Haustiere, 55, 68-74.

(81) GARD(S.). 1968.- Viral factors in human carcinogenesis.-
Europ.J.Cancer, 4(1), 15-21.

(82) GAZZOLO(L.) De THE(G.) VIGIER(P.) SARMA(P.S.). 1969.- Présence de particules à l'aspect de nucléocapsides associées aux mitochondries dans des cellules de Hamster transformées par le virus de Rous.-
Cptes ren.hebd.Séanc.Acad.Scis, Sér.D, 268(12), 1668-1670.

(83) GLASER(R.) BURKE(C.N.) FREDRICKSON(T.N.) LUGINBULH(R.E.).1969.- Virus-like particles observed in plasma and white blood cells from birds with Marek's disease.- Avian Dis., 13(2), 261-267.

(84) GORET(P.) PROVOST(A.). 1966.- Les virus des cancers animaux. Réflexions sur l'étiologie et la pathogénie du cancer. I.- L'association des concepts de virus et de cancer.- Recl.Méd.vét.Ec.Alfort, 142(2), 83-94.

(85) GRANOFF(A.) DARLINGTON(R.W.). 1969.- Viruses and renal carcinoma of Rana pipiens. VIII.- Electron microscopic evidence for the presence of herpesvirus in the urine of a Lucké tumor-bearing frog.- Virology, 38(1), 197-200.

(86) GRUNDBOECK(M.). 1965.- Myeloid metaplasia findings in iris of chickens affected with the ocular form of Marek's disease.- Bull.Vet.Inst., Pulawy, Poland, 9, 137-139.

(87) GRUNDBOECK(M.). 1966.- Cytological investigations on cellular infiltrations in irises of hens. I.) Character of infiltrations in clinically healthy birds in those affected with some diseases and in chickens with experimentally induced iritis.- II.-) Morphology and cytochemical characteristics of infiltration cells in comparison to the cells of bone marrow and peripheral blood.- Bull.Vet.Inst.Pulawy, Poland, 10(1/2), 1-40.

(88) GUERIN(M.) OBERLING(C.). 1961.- Néoplasies et cancers à virus.- Paris. A. Legrand, 1961.

(89) GUILLON(J.C.) FONTAINE(M.). 1962.- Problèmes de nomenclature des maladies prolifératives des tissus mésenchymateux de la poule.- Cah.Méd.vét., 31, 65-90.

(90) GUNDERSON(L.L.) LOW(F.N.). 1968.- Perineurium and connective tissues of peripheral nerve.- Am.J.Vet.res., 29(2), 455-461.

(91) HAIDER(S.A.) RINGEN(L.M.). 1970.- Comparative nerve lipid changes in fowl with Marek's disease detected by thin-layer chromatography.- Avian Dis., 14(1), 45-53.

(92) HORIUCHI(T.) TEZUKA(A.) SHOYA(S.) YUASA(N.). 1969.- Lymphomatous lesions induced in chickens by cellular inoculum.- Natn.Inst.Anim.Hlth.Q.,Tokyo, 9(4), 203-212.

(93) HOWARD(E.B.) JANNKE(C.) VICKERS(J.) KENYON(A.J.). 1967.- Elevated gamma globulin levels in Marek's disease (neural lymphomatosis) of domestic fowl.- Cornell Vet., 57(2), 183-193.

(94) HUEBNER(R.S.). 1968.- Viruses as causes of leukemias and Sarcomas.- J.Am.Vet.Med.Ass., 152, 1355-1356.

(95) HUEBNER(R.J.). 1970.- Un virus cancérogène unique ? Science New, 97, 40. in : Presse méd., 78(16), 772.

(96) JAKOWSKI(R.M.) FREDRICKSON(T.N.) CHOMIAK(T.W.) LUGINBUHL(R.E.). 1970.- Hematopoietic destruction in Marek's disease.- Avian Dis., 14(2), 374-385.

(97) JAKOWSKI(R.M.) FREDRICKSON(T.N.) LUGINBUHL(R.E.) HELMBOLDT(C.F.). 1969.- Early changes in bursa of Fabricius from Marek's disease.- Avian Dis., 13(1), 215-222.

(98) JANKOVIC(B.D.) ISVANESKI(M.). 1963.- Experimental allergic encephalomyelitis in thymectomised, bursectomised and normal chicks.- Int.Arch.Allergy, 23, 188-206.

(99) JURAJDA(V.) KLIMES(B.). 1970.- Presence and survival of Marek's disease agent in dust.- Avian Dis., 14(1), 188-190.

(100) KAJIMA(M.). 1969.- Induced malignant lymphoma in Germ free mice.- Adv.exp.Med.Biol., 3, 153.

(101) KAKUK(T.J.) CONNER(G.H.) LANGHAM(R.F.) MOORE(J.A.) MITCHELL(J.R.) 1969.- Isolation of a Canine Herpesvirus from a dog with malignant lymphoma.- Am.J.Vet.Res., 30(11), 1951-1960.

(102) KENZY(S.G.) CHO(B.R.). 1969.- Transmission of classical Marek's disease by affected and carrier birds.- Avian Dis., 13(1), 211-214.

(103) KENZY(S.G.) LAPEN(R.F.) SHARMA(J.M.) MATHEY(W.J.).1969.- Transmission of cutaneous Marek's disease.(Skin leukosis). J.Am.Vet.Med.Ass., 154, 1419.

(104) KLEIN(G.) PEARSON(G.) HENLE(G.) HENLE(W.) DIEHL(V.) NIEDERMAN(J.C.) 1968.- Relation between Epstein-Barr viral and cell membrane, immunofluorescence in Burkitt tumor cells. J.Exp.Med., 128, 1021-1030.

(105) KOPROWSKI(H.) FERNANDES(M.). 1962.) Autosensitization reaction in vitro, contactual agglutination of sensitized lymphe node cells in brain tissue culture accompagnied by destruction of glial elements.-
J. exp.Méd.,116, 467-476.

(106) KOTTARIDIS(S.D.) LUGINBUHL(R.E.) FREDRICKSON(T.N.). 1968.-
Marek's disease. II.- Propagation of the connecticut-A isolate in cell cultures.-
Avian Dis., 12, 246-258.

(107) LAL(J.B.) SCHMITTLE(S.C.) RICHEY(D.J.). 1967.- Lesion distribution studies of G.A isolates induced acute Marek's disease in chickens.-
Poult.Sci., 46, 1283.

(108) LAMPERT(F.) BAHR(G.F.) RABSON(A.S.). 1969.- Herpes simplex virus : Dry mass.-
Science, 166(3909),1163-1165.

(109) LEE(L.F.) ROIZMAN(B.) SPEAR(P.G.) KIEFF(E.D.) BURMESTER(B.R.).1969.-
Marek's disease Herpes virus : A cytomegalovirus ?
Proc.natn.Acad.Sci.U.S.A.,64(3), 952-956.

(110) LERCHE(F.)FRITZSCHE(K.).1934.- Histopathologie und diagnostik der geflügellähme.-
Z.InfektKrankh.parasit.Krankh.Hyg.Haustiere, 45, 89-128.

(111) LOMBARD(C.).1968.- Les leucoses animales.-
Institut National de la Recherche Agronomique.PARIS, 215p.

(112) LUCAS(A.M.). 1949.- Lymphoid tissue and its relation to so-called normal lymphoid foci and to lymphomatosis.
I.- Qualitative study of lymphoid areas in the pancreas of chickens.-
Am.J.Path., 25, 1197-1213.

(113) MAAG(T.A.). 1968.- Marek's disease's role in skin leukosis.-
Poult.Dig., 27(313), p.156-157.

(114) MATOLTSY(A.G.). 1969.- Keratinization of the avian epidermis. An ultrastructural study of the newborn chick skin.-
J.Ultrastruct.Res., 29, 438-458.

(115) MacPHERSON(I.). 1967.- Recent advances in the study of viral oncogenesis.-
Br.med.Bull., 23(2), 144-149.

(116) MAREK(J.). 1907.- Multiple nervenentzündung (Polyneuritis) bei Hühnern.-
Dts Tierärstl.Wochensch., 15(30), 417-421.

(117) MARSH(R.F.) HANSON(R.P.). 1969.- Physical and chemical properties of the transmissible mink encephalopathy agent.- J.Virol., 3(2), 176-180.

(118) MAY(R.M.) THILLARD(M.J.). 1954.- Effets d'extraits de nerfs sains et dégénérés sur des cultures de tissu nerveux chez l'embryon de poulet.- Archs Biol., 65, 339-361.

(119) MELNICK(J.L.). 1968.- Latent viral infections in donor tissues and in recipients of vaccines.- Natn.Cancer Inst.Monogr., 29, 337-344.

(120) MILLER(J.M.) MILLER(L.D.) OLSON(C.) GILLETTE(K.G.). 1969.- Virus-like particles in phytohemagglutinin stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma.- J.natn.Cancer Inst., 43(6), 1297-1306.

(121) MIROFF(G.) LAMBERSON(H.V.). 1970.- The distribution of the mouse mammary tumor and its antigenicity in milk.- Int.J.Cancer, 5, 136-146.

(122) NAKAGAWA(M.). 1965.- Pathological studies of fowl paralysis. The relationship between the lesions in the nervous system and those in the visceral organs.- Jap.J.vet.Res., 13, 55-56.

(123) NAZERIAN(K.). 1968.- Marek's disease (MD) agent in cell culture.- Proc.Am.Ass.Cancer Res., 9(3), p.53.

(124) NAZERIAN(K.) BURMESTER(B.R.). 1968.- Electron microscopy of a herpes virus associated with the agent of Marek's disease in cell culture.- Cancer Res., 28(12), 2454-2462.

(125) NAZERIAN(K.) WITTER(R.L.). 1970.- Cell-free transmission and *in vivo* replication of Marek's disease virus.- J.Virol., 5(3), 388-397.

(126) NAZERIAN(K.) SOLOMON(J.J.) WITTER(R.L.) BURMESTER(B.R.). 1968.- Studies on the etiology of Marek's disease. II.- Finding of a Herpes virus in cell culture. - Proc.Soc.exp.Biol.Med., 127, 177-182.

(127) OAKBERG(E.F.). 1950.- Distribution and amount of lymphoid tissue in some of the splanchnic nerves of chickens in relation to age, sex, and individual constitution.- Poult.Sci., 29, 420-436.

(128) OBERLING(Ch.) BERNHARD(W.). 1961.- The morphology of the cancer cells. in : THE CELL, vol.V. pp.405-496. BRACHET & MIRSKY ed.

(129) OKADA(K.). 1969.- Light and electron microscopic observations on the peripheral nerve lesions in Marek's disease.- Jap.J.vet.Res., 17, 86.

(130) OWEN(J.J.T.) MOORE(M.A.S.) BIGGS(P.M.). 1966.- Chromosome studies in Marek's disease.- J.Natn.Cancer Inst., 37(2), 199-210.

(131) PAGE(R.K.) FLETCHER(O.J.) EIDSON(C.S.). 1970.- The differential diagnosis of Marek's disease and lymphoid leukosis.- J.Am.vet.med.Ass., 156(1), 107.

(132) PATTERSON(L.T.) WADE(S.K.) EVANS(D.L.). 1969.- Hematological changes in acute leukosis (Marek's disease).- Poult.Sci., 48(5), 1857.

(133) PATTISON(I.H.) JONES(Katharine M.). 1968.- Detection of the Scrapie agent in tissues of normal mice and in tumours of tumor bearing but otherwise normal mice.- Nature, 218(5136), 102-104.

(134) PAYNE(L.N.). 1968.- Roles of the bursal and thymic lymphoid systems in Marek's disease.- J.Am.vet.med.Ass., 152(9), 1353.

(135) PAYNE(L.N.) BIGGS(P.M.). 1967.- Studies on Marek's disease. II.- Pathogenesis.- J.natn.Cancer Inst., 39(2), 281-291.

(136) PERCY(D.H.) MUNNEL(J.F.) OLANDER(H.J.) CARMICHAEL(L.E.). 1970.- Pathogenesis of canine Herpesvirus encephalitis.- Am.J.vet.Res., 31(1), 145-156.

(137) PETEK(M.) QUAGLIO(G.L.). 1967.- Experimental allergic neuritis in the chicken (With colour plate II).- Path.Vet., 4(5), 464-476.

(138) De PETRIS(S.) HARVEY(J.J.). 1969.- Presence of unusual virus particles in two hamster tumour tissue culture cell lines induced by murine sarcoma virus.- J.gen.Virol., 5(4), 561-564.

(139) PURCHASE(H.G.). 1969.- Detection of virus-specific antigen in Marek's disease-infected birds by immunofluorescence.- J.Am.vet.Med.Ass., 154(11), p.1421.

(140) PURCHASE(H.G.). 1969.- Immunofluorescence in the study of Marek's disease. I.- Detection of antigen in cell culture and an antigenic comparison of eight isolates.- J.Virol., 3, 557-565.

(141) PURCHASE(H.G.). 1970.- Virus-specific immunofluorescent and precipitin antigens and cell-free virus in the tissues of birds infected with Marek's disease.- Cancer Res., 30(6), 1898-1908.

(142) RUSZNYAK(I.) FOLDI(M.) SZABO(G.). 1967.- Lymphatics and lymph circulation. Physiology and pathology. 2nd ed.anglaise.- Oxford, London, Pergamon Press, 1967.

(143) SARKAR(N.H.) CHARNEY(J.) MOORE(D.H.). 1969.- Mammary tumor virion structures in mouse milk fractions.- J.natn.Cancer Inst., 43(6), 1275-1281.

(144) SCHIDLOVSKY(G.) AHMED(M.) JENSEN(K.E.). 1969.- Herpesvirus in Marek's disease tumors.- Science, 164(3882), 959-961.

(145) SCHWARTZ(J.) ROIZMAN(B.). 1969.- Concerning the egress of Herpes simplex virus from infected cells : electron and light microscope observations.- Virology, 38(1), 42-49.

(146) SENGEL(P.) DHOUAILLY(D.) KIENY(M.). 1969.- Aptitude des constituants cutanés de l'aptérie médioventrale du poulet à former des plumes.- Devl Biol., 19, 436-446.

(147) SEVOIAN(M.) CHAMBERLAIN(D.M.) COUNTER(F.). 1962.- Avian lymphomatosis. I. Experimental reproduction of the neural and visceral forms.- Vet.Med., 57, 500-501.

(148) SEVOIAN(M.) CHAMBERLAIN(D.M.). 1964.- Avian lymphomatosis. IV.- Pathogenesis.- Avian Dis., 8(2), 281-310.

(149) SIBAL(L.R.) FINK(M.A.). 1970.- Cross-reactions of oncogenic viruses.- Science, 167(3916), 309-310.

(150) SILLER(W.G.). 1960.- Experimental allergic encephalomyelitis in the fowl.- J.Path.Bact., 80, 43-53.

(151) SIMPSON(C.F.). 1969.- Electron microscopy of the irises of chickens with spontaneous ocular leukosis.- Cancer Res., 29(1), 33-39.

(152) SIMPSON(C.F.). 1969.- Association of virus with nerve fibers in the irides of chickens with ocular leukosis.- Am.J.vet.Res., 30(12), 2191-2196.

(153) SOUTHAM(C.M.) TANAKA(S.) ARATA(T.) SIMKOVIC(D.) MIURA(M.) PETROPOULOS(S.F.). 1969.- Enhancement of responses to chemical carcinogens by nononcogenic viruses and antimetabolites.- in : PROGRESS IN EXPERIMENTAL TUMOR RESEARCH.Vol.11. HOMBURGER(F.) ed. Session 2 : Carcinogenesis Viewed as function of agent. pp. 194-212.

(154) SPECTOR(W.G.) HEESON(N.). 1969.- The production of granulomata by antigen-antibody complexes.- J.Path., 98, 31-39.

(155) STACKPOLE(C.W.). 1969.- Herpes type virus of the frog renal adenocarcinoma . I.- Virus development in tumor transplants maintained at low temperature.- J.Virol., 4, 75-93.

(156) Di STEFANO(H.) DOUGHERTY(R.M.). 1964.- Virus particles in the nerve of Remak of chick embryos.- J.natn.Cancer Inst., 33(921-934.

(157) TEMIN(H.M.). 1967.- Studies on carcinogenesis by avian Sarcoma viruses. IV : THE MOLECULAR BIOLOGY OF VIRUSES. COLTER(J.S.) PARANCHYCH(W.) ed.- pp.709-716.

(158) De THE(G.). 1968.- Relations cellules-virus dans les leucémies et tumeurs aviaires.- Nouv.Revue fr.Hémat., 8(6), 769-792.

(159) THEILEN(G.H.). 1968.- Current status of transmissible agents in feline lymphosarcoma.- J.Am.Vet.Med.Ass., 152, 1356.

(160) THEILEN(G.H.) ZEIGEL(R.F.) TWIEHAUS(M.J.). 1966.- Biological studies with RE virus (strain T) that induces reticuloendothéliosis in turkeys, chickens and japanese quail.- J.natn.Cancer Inst., 37, 731-739.

(161) THEILEN(G.H.) KAWAKAMI(T.G.) RUSH(J.D.) MUNN(R.J.). 1969.- Replication of cat leukaemia virus in cell suspension cultures.- Nature, 222, 589-590.

(162) THOMAS(J.A.) HOLLANDE(E.) HENRY(M.) DUCROS(M.C.). 1969.- Infrastructures, relations et répartition des particules virales et infravirales dans les adénocarcinomes mammaires généralisant chez la Souris.- Cptes ren.Séanc.Acad.Scis,Série D, 269 ,265-268.

(163) VINDEL(J.A.). 1964.- Neurolymphomatose aviaire. Epizootiologie, Etiologie et Pathogénie.-
Recl Méd.vét.Ec.Alfort, 140, 87-113.

(164) WIGHT(P.A.L.). 1962.- Variations in peripheral nerve histopathology in fowl paralysis.-
J.comp.Path., 72, 40-48.

(165) WIGHT(P.A.L.). 1965.- The regenerative capacity of nerves affected by fowl paralysis.-
Br.vet.J., 121(6), 278-281.

(166) WIGHT(P.A.L.). 1967.- Mast cells in nerves affected with fowl paralysis (Marek's disease).-
Experientia, 23(10), 856.

(167) WIGHT(P.A.L.). 1969.- The ultrastructure of sciatic nerves affected by fowl paralysis (Marek's disease).-
J.comp.Path., 79(4), 563-570.

(168) WITTER(R.L.) SOLOMON(J.J.) BURGOYNE(G.H.). 1969.- Cell culture techniques for primary isolation of Marek's disease-associated herpesvirus.-
Avian Dis., 13(1) , 101-118.

(169) WITTER(R.L.) NAZERIAN(K.) PURCHASE(H.G.) BURGOYNE(G.H.). 1970.- Isolation from turkeys of a cell-associated Herpesvirus antigenically related to Marek's disease virus.-
Am.J.vet.Res., 31(3), 525-538.

(170) YOFFEY(J.M.) COURTICE(F.C.). 1956.- Lymphatics, lymph and lymphoïd tissue.-
London, E. Arnold, 1956.- pp. 173-175.

PLANCHE I

Fig.: 1 . Plexus sciatique - Infiltration avancée - Grandes cellules lymphoïdes (GL) - Histiocytes (H) - Abondance de collagène entre les rangées cellulaires (flèches) - Poulet n° 19 646 - Exp.: 904 - Sacrifié au 68è jour - Fix.: formol sublimé - Col.: hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

Fig.: 2 . Plexus sciatique - Début de lésions spécifiques - Cellule de Schwann arrondie et isolée (S) - Lymphocytes (L) - Mitose : télophase (flèche) - Poulet n° 19 646 - Exp.: 904 - Sacrifié au 68è jour - Fix.: formol sublimé - Col.: hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

Fig.: 3 . Plexus sciatique - Oedème dilatant les fibres nerveuses - Grandes cellules basophiles - Poulet n° 19 646 - Exp.: 904 - Sacrifié au 68è jour - Fix.: formol sublimé - Col.: hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

Fig.: 4 . Plexus sciatique - Ganglion spinal - Forte infiltration lymphoïde entre les neurones - Neurone normal et neurone avèc noyau à chromatine plus condensée - Poulet n° 9 784 - Exp.: 04 - Mort au 30è jour - Fix.: formol sublimé - Col.: May Grunwald-Giemsa. Barre = 10 microns.

Fig.: 5 . Plexus sciatique - Infiltration localisée à certaines rangées de fibres - Cellule de Schwann isolée (S) - Lymphocytes rares - Poulet n° 19 646 - Exp.: 904 - Sacrifié au 68è jour - Fix.: formol sublimé - Col.: hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

Fig.: 6 . Plexus sciatique - Forte infiltration lymphoïde - Lymphocytes et grandes cellules lymphoïdes - Axones intacts (flèches) - Poulet n° 9 784 - Exp.: 04 - Mort au 30è jour - Fix.: formol sublimé - Col.: hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

Fig.: 7 . Plexus sciatique - Plasmocyte (PL) - Cellules hyperbasophiles - Début de démyélination - Poulet n° 19 681 - Exp.: 03 - Sacrifié au 67è jour - Fix.: formol sublimé - Col.: hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

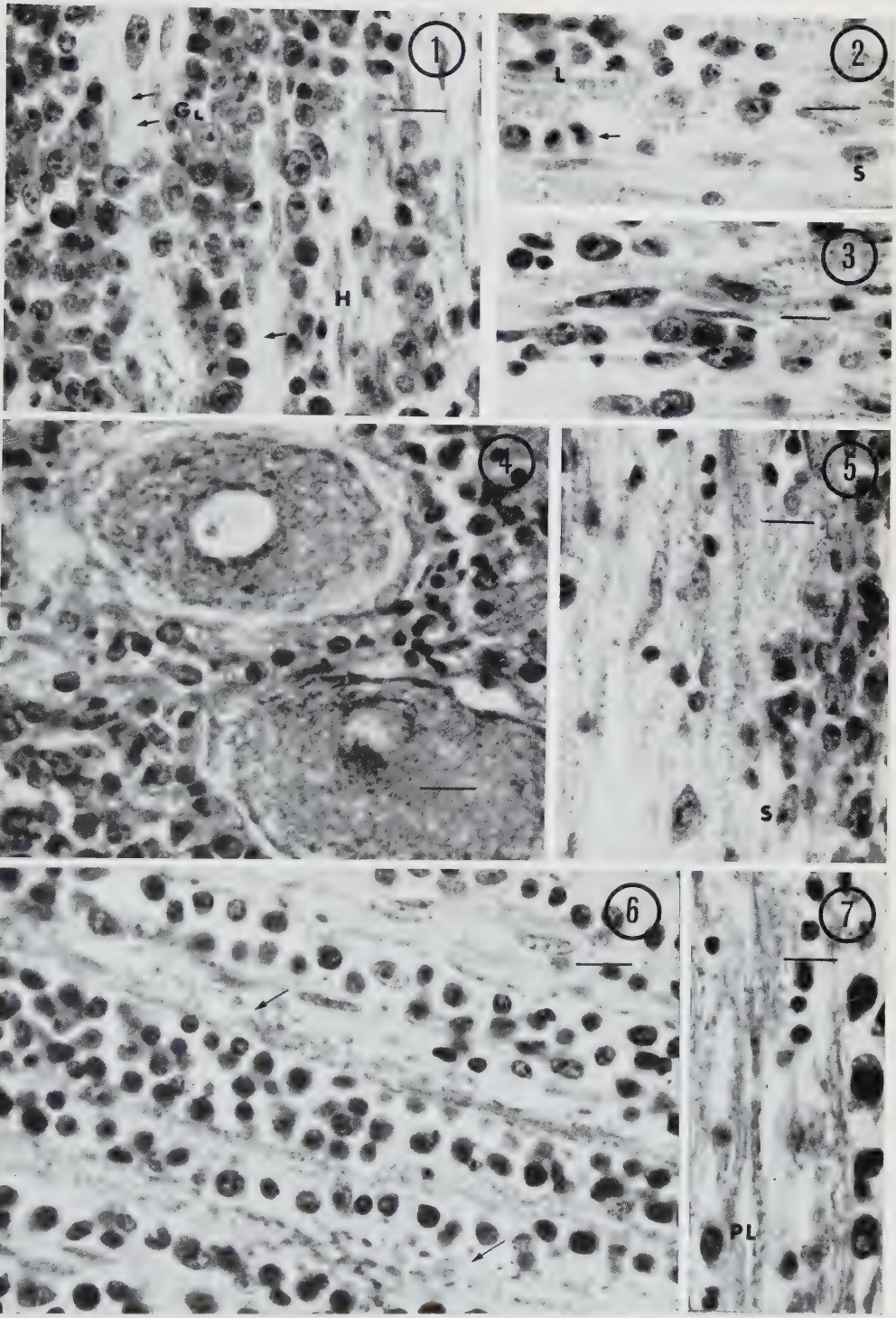

1
GL
H
2
L
S
3
4
5
S
6
7
PL

PLANCHE II

FIG. 1.

Plexus sciatique — Forte infiltration tumorale — Gaine de myéline intacte (M) — Fibre peu myélinisée (m) — Petites cellules rondes (L) — Grandes cellules lymphoïdes (GL) — Histiocytes (H) — Poulet n° 13 873 — Exp. : 02 — Sacrifié au 55e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Coupe à 1 μ d'épaisseur — Col. : bleu de toluidine. Barre = 10 microns.

FIG. 2.

Ovaire — Invasion tumorale — Grandes cellules hyperbasophiles — Poulet n° 16 965 — Exp. : 901 — Mort au 67e jour — Fix. : formol sublimé — Col. : hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

FIG. 3.

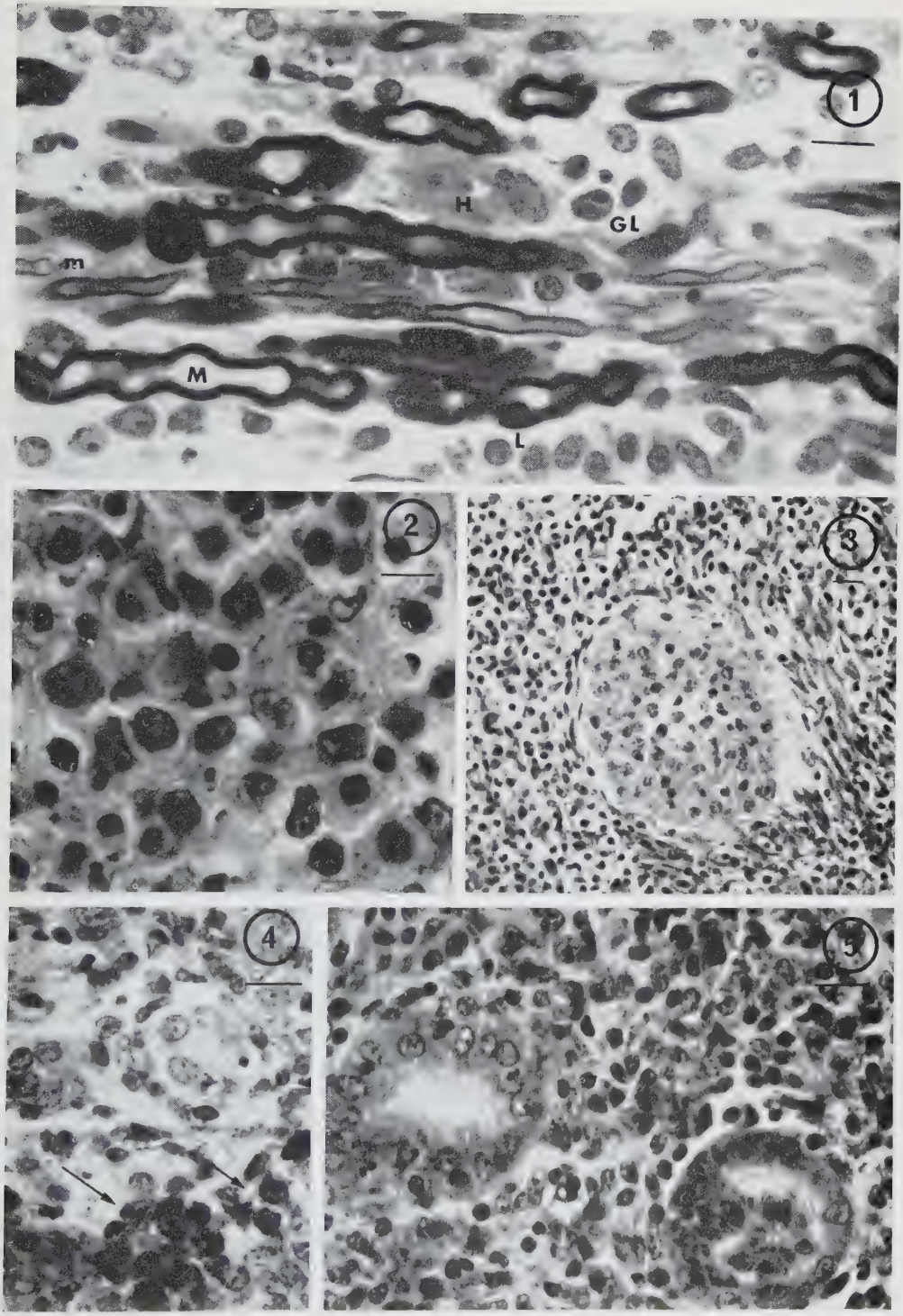
Ovaire — Forte infiltration tumorale à prédominance lymphocytaire — Début de dégénérescence du follicule — Poulet n° 16 965 — Exp. : 901 — Mort au 67e jour — Fix. : formol sublimé — Col. : hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

FIG. 4.

Rein — Zone de destruction des tubes rénaux — Glomérule de Malpighi — Présence de granulocytes hétérophiles (flèches) — Poulet n° 16 976 — Exp. : 901 — Sacrifié au 49e jour — Fix. : formol sublimé — Col. : hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

FIG. 5.

Rein — Zone à petites cellules de type lymphocytaire — Tubes rénaux en voie de dégénérescence — Poulet n° 16 976 — Exp. : 901 — Sacrifié au 49e jour — Fix. : formol sublimé — Col. : hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.



L. CAUCHY

PLANCHE III

FIG. 1.

Bourse de Fabricius — Aspect normal : plis folliculaires bien gonflés, épithélium tendu, follicules polyédriques remplis de grandes cellules lymphoïdes — Poulet n° 19 623 — Exp. : 904 — Sacrifié au 20e jour — Fix. : Bouin Hollande — Col. : hématoxyline-éosine. Barre : 10 microns.

FIG. 2.

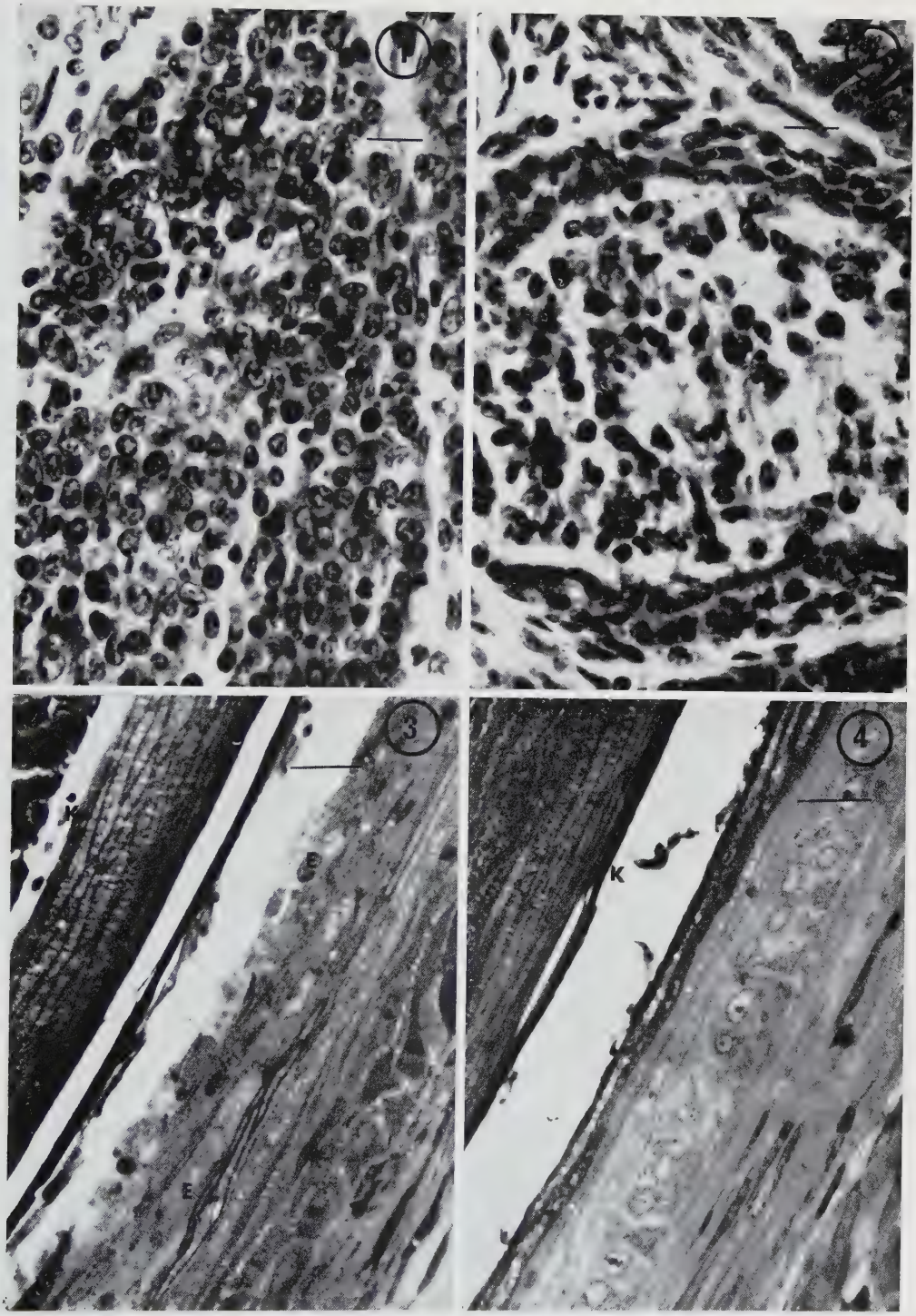
Bourse de Fabricius — Aspect très modifié : plis folliculaires étroits, épithélium plissé sur toute sa longueur, follicules de petite taille à plage claire centrale. Dans certains follicules, les cellules lymphoïdes sont disparues pour la plupart laissant apparaître l'assise épithéliale originelle et la trame mésenchymateuse interne — Poulet n° 19 643 — Exp. : 904 — Sacrifié au 20e jour — Fix. : Bouin Hollande — Col. : hématoxyline-éosine. Barre = 10 microns.

FIG. 3.

Follicule plumeux — Partie extérieure à la gaine kératinisée (K) — Epiderme folliculaire à cellules vacuolisées (E). Poulet n° 19 432 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Coupes à 1 μ d'épaisseur — Col. : bleu de toluidine. Barre = 10 microns.

FIG. 4.

Follicule plumeux normal — Partie extérieure à la gaine kératinisée — Epiderme folliculaire à plusieurs couches : germinative, granuleuse, cornée. — Poulet n° 19 402 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Coupes à 1 μ d'épaisseur — Col. : bleu de toluidine. Barre = 10 microns.



L. CAUCHY

PLANCHE IV

FIG. 1.

Plexus sciatique tumoral — Extérieur de fibre myélinique — Gaine de myéline intacte (M) — Cellule de Schwann (S) décollée de la basale et en voie d'altération : vacuoles dilatées, mitochondries dilatées, ribosomes en amas — Cellule anormale de type lymphoïde (L) : noyau volumineux et irrégulier, cytoplasme réduit mais riche en mitochondries et inclusions — Œdème intracellulaire (Oe) — Poulet n° 15 963 — Exp. : 807 — Sacrifié au 56e jour. Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Hitachi. Barre = 1 micron.

FIG. 2.

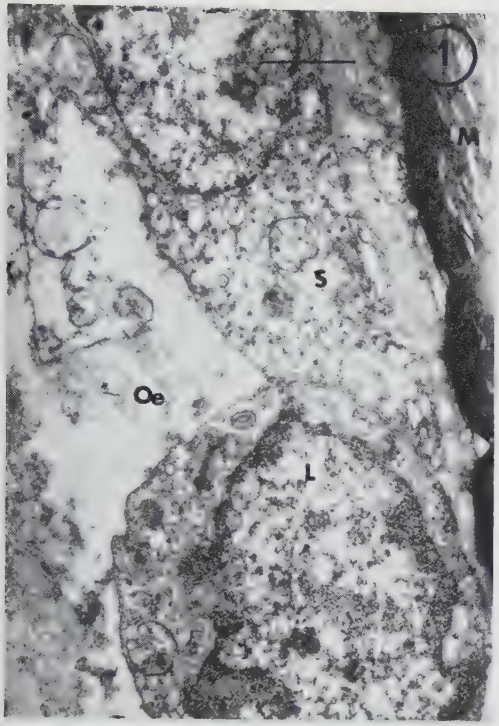
Plexus sciatique tumoral – Zone où les fibres nerveuses ont disparu — Deux cellules anormales de type lymphoïde : l'une (A) possède un noyau arrondi à chromatine grossièrement dispersée et disposée en amas périphériques et un cytoplasme riche en ribosomes, l'autre (B) possède un noyau très irrégulier et un cytoplasme bourré de mitochondries — Poulet n° 15 963 — Exp. : 807 — Sacrifié au 56e jour — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Hitachi. Barre = 1 micron.

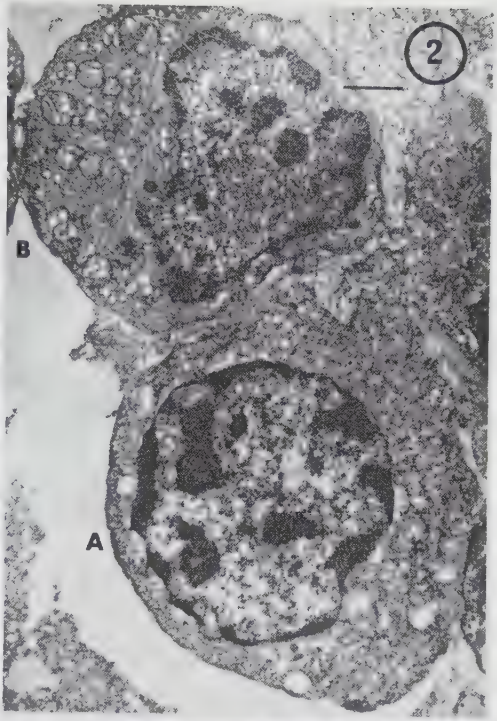
FIG. 3.

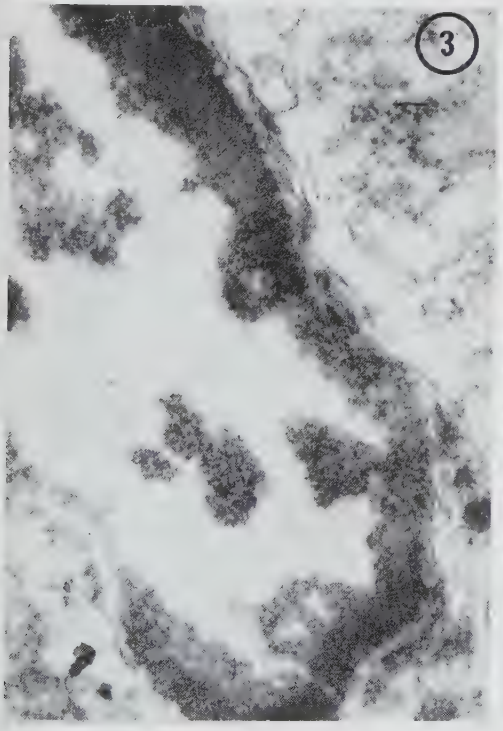
Plexus sciatique tumoral — Gaine de myéline détruite : la structure feuilletée a disparu, des débris opaques sont visibles dans la zone de l'axone. — Poulet n° 19 989 — Exp. : 903 — Sacrifié le 27e jour — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 100 nm.

FIG. 4.

Plexus sciatique tumoral — Débris de fibre nerveuse entourée par trois cellules probablement tumorales (T) — L'axone est complètement dégénéré (A) — Poulet n° 19 819 — Exp. : 908 — Sacrifié le 49e jour — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 1 micron.


1
M
S
Oe
L


2
B
A


3

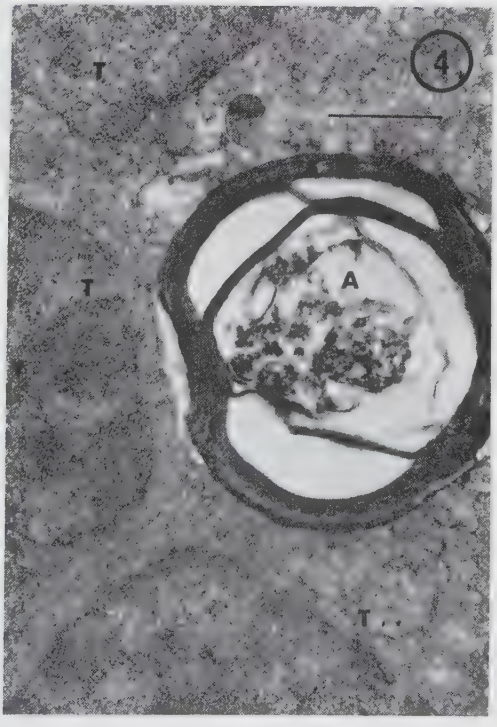

4
T
T
A
T

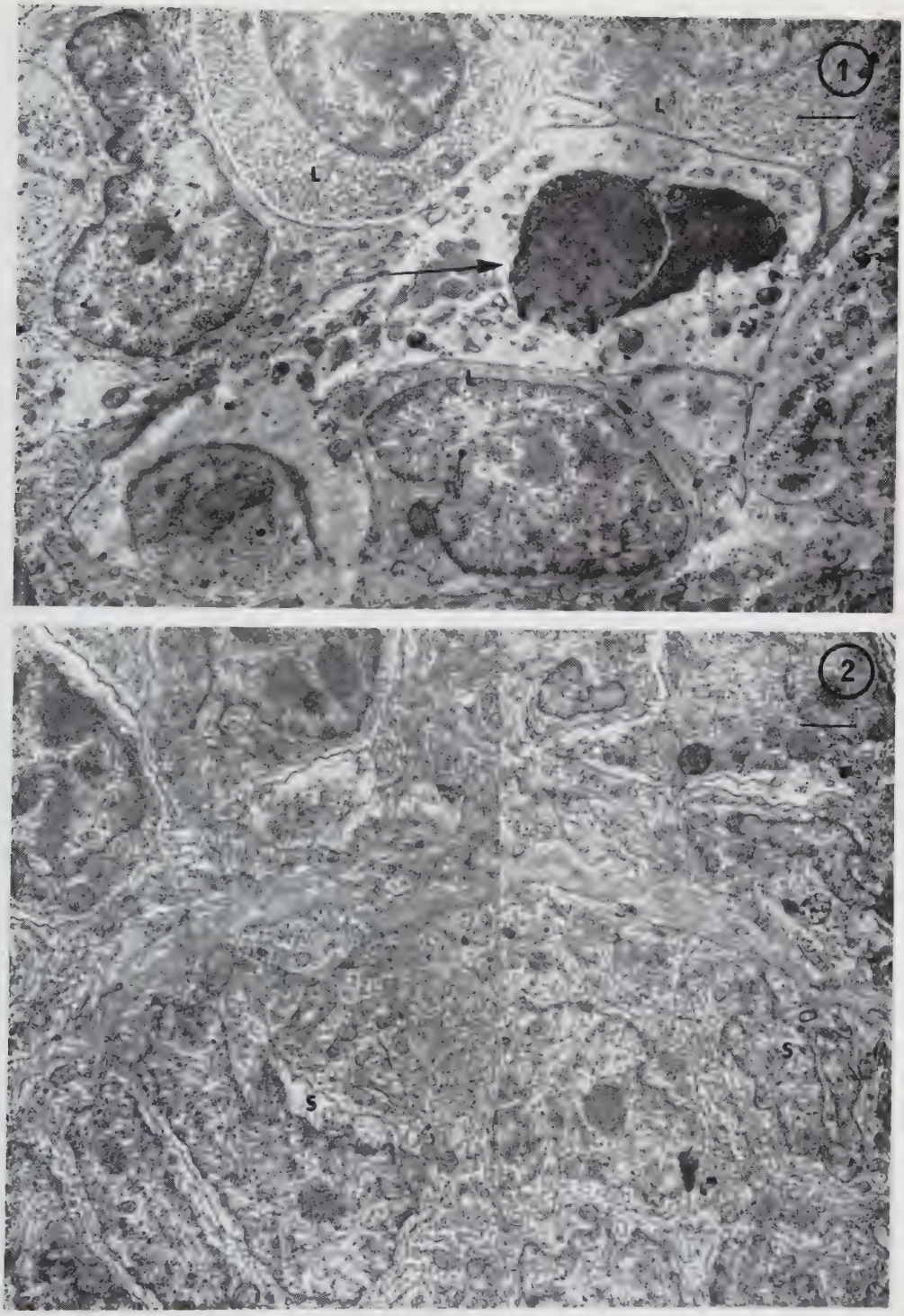
PLANCHE V

FIG. 1.

Bourse de Fabricius de poulet infecté — Zone folliculaire de cellules lymphoblastiques (L) en voie de disparition — Cellule nécrosée (flèche) incluse dans le cytoplasme d'un macrophage — Poulet n° 19 643 — Exp. : 04 — Sacrifié au 20e jour avec des lésions histologiques spécifiques — Fixation : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Hitachi. Barre = 1 micron.

FIG. 2.

Testicule tumoral de poulet malade — Zone d'invasion débutante. En haut à gauche, cellules lymphoïdes analogues aux cellules tumorales — En bas, tube séminifère apparemment intact : cellules de Sertoli (S) au milieu des cellules de soutien. Poulet n° 19 973 — Exp. : 903 — Sacrifié au 27e jour avec des lésions histologiques spécifiques — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photos Hitachi (montage de 2 images). Barre = 1 micron.



L. CAUCHY

PLANCHE VI

FIG. 1.

Follicule plumeux de poulet malade — Zone de l'épiderme extérieur à la gaine interne — Vers la droite, zone d'exfoliation épidermique — A gauche, volumineux noyau de la zone intermédiaire (N) : la margination de la chromatine dense est normale, une particule virale de type Herpès est visible (flèche), le cytoplasme est vacuolaire.

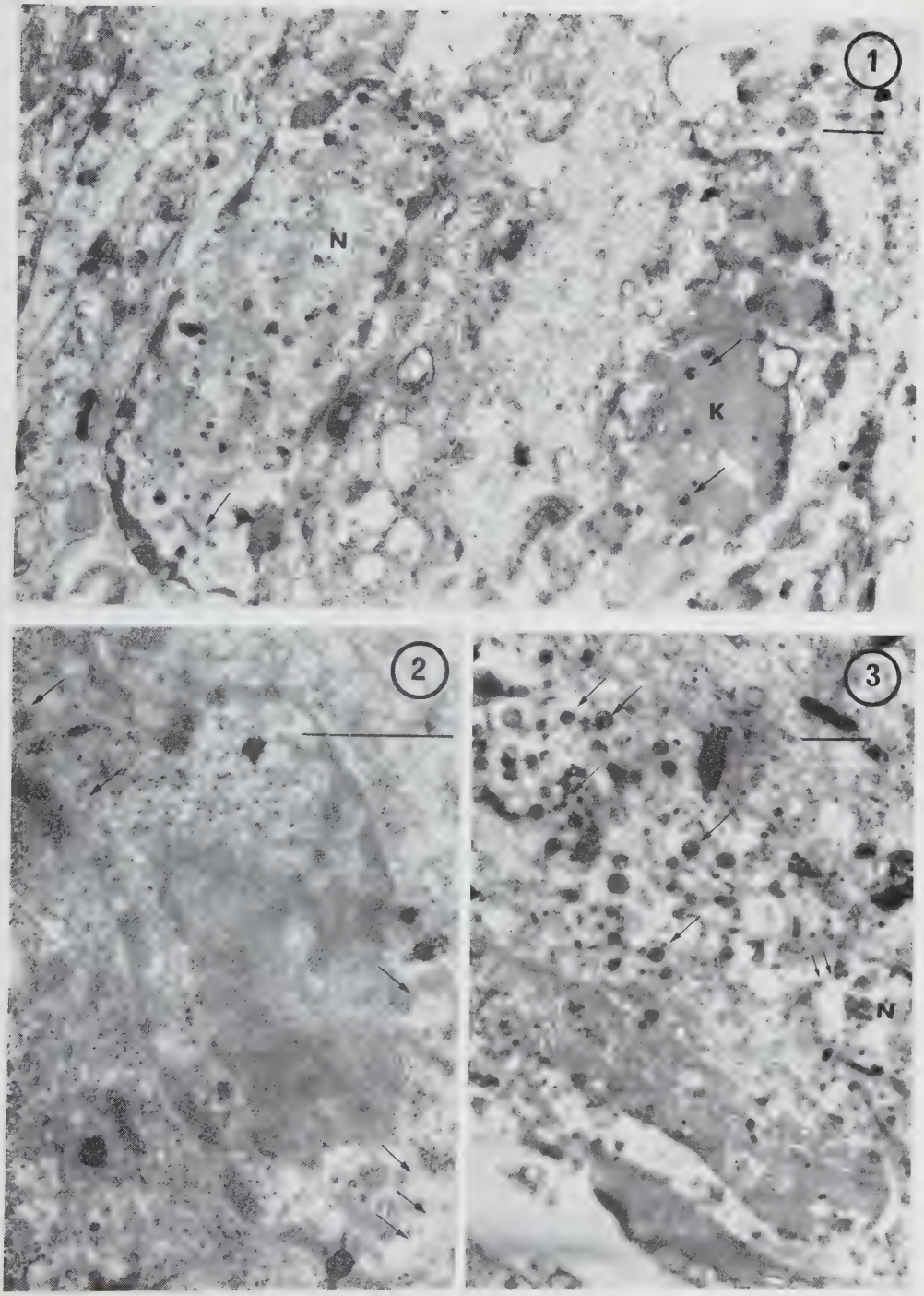
A droite, dans le cytoplasme d'une autre cellule, substance amorphe (K) contenant des particules enrobées (flèches). Poulet n° 19 432 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide uranyle — Photo. : Philips. Barre = 1 micron.

FIG. 2.

Follicule plumeux de poulet malade — Zone de l'épiderme extérieur à la gaine interne — Noyau d'une cellule proche de l'assise germinative : nombreuses particules (flèches), zone interne dense non délimitée en corps d'inclusion — Poulet n° 19 432 — Exp. : 03— Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide uranyle — Photo. : Philips. Barre = 1 micron.

FIG. 3.

Follicule plumeux de poulet malade — Zone de l'épiderme extérieur à la gaine interne — Vers le bas, à gauche, zone vacuolisée : à droite, noyau (N) avec particules virales de type Herpès (flèche double) ; à gauche, cytoplasme avec nombreuses particules enrobées (flèches). — Poulet n° 19 432 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide uranyle — Photo. : Philips. Barre = 1 micron.



L. CAUCHY

PLANCHE VII

FIG. 1.

Follicule plumeux de poulet malade — Zone épidermique extérieure à la gaine kératinisée — Zone avec particules : détail des particules virales de type Herpès isolées dans le cytoplasme proche d'un noyau à contours interrompus — Diamètre extérieur voisin de 10 nm — Nucléoïdes condensés, irréguliers — Une particule avec zone claire extérieure (flèche) — Poulet n° 19 432 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 100nm.

FIG. 2.

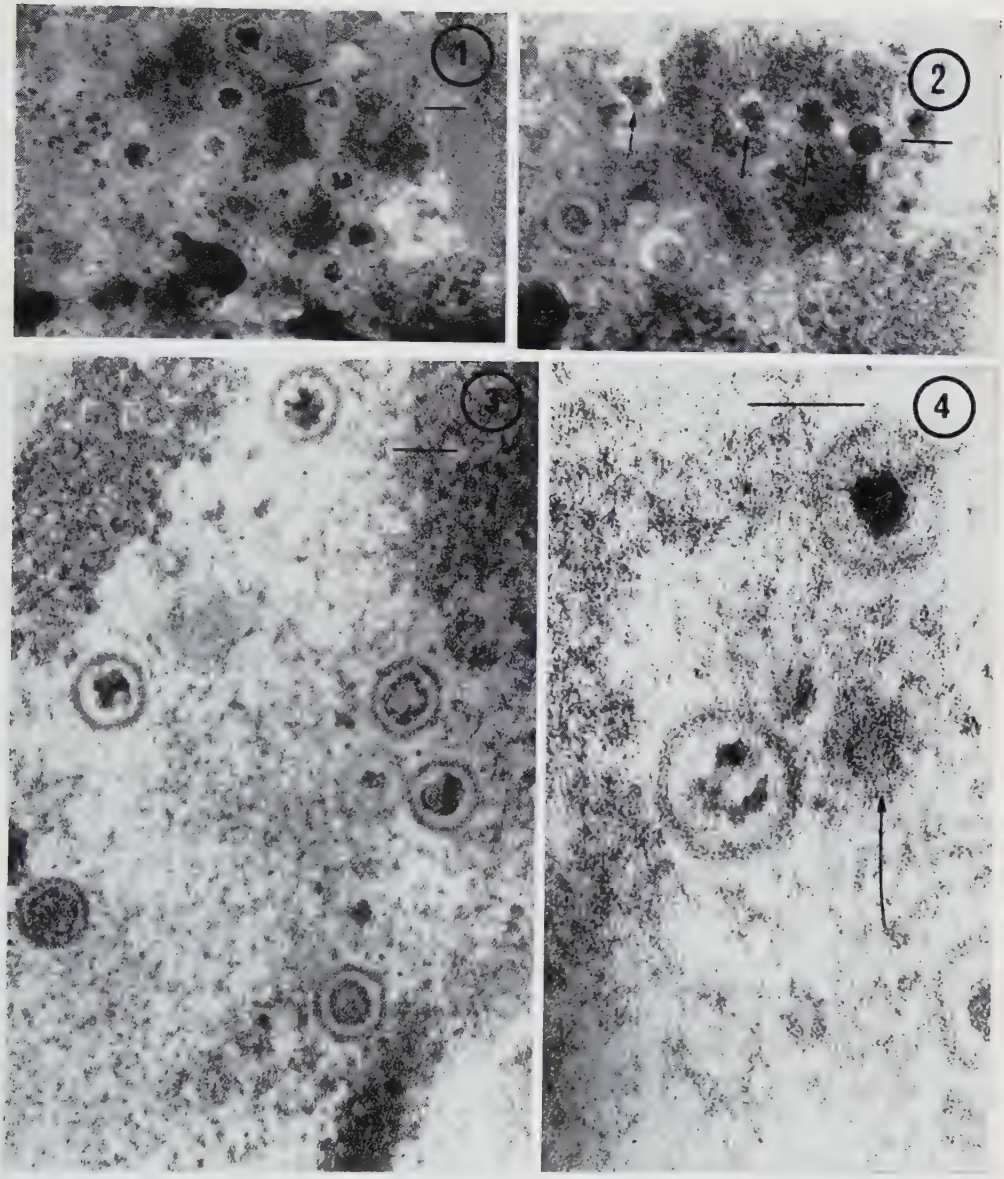
Follicule plumeux de poulet malade — Même zone que pour la figure 1 — Particules de type Herpès à nucléoïdes condensés, de diamètre extérieur voisin de 120 nm — Autres condensations entourées d'un halo clair, de la taille des nucléoïdes (60 nm) (flèches) — Poulet n° 19 432 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 100 nm.

FIG. 3.

Follicule plumeux de poulet malade — Zone épidermique extérieure à la gaine kératinisée — Noyau avec particules de type Herpès : diamètre extérieur voisin de 115 nm, nucléoïdes à formes diverses. Poulet n° 19 427 — Exp. : 03 —Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 100 nm.

FIG. 4.

Follicule plumeux de poulet malade — Même zone que pour la figure 3 — Particules de type Herpès — Nucléoïde de forme rubannée — Autre nucléoïde très condensé — Reste de particule sectionnée en dehors de son équateur (flèche) — Poulet n° 19 427 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 100 nm.



L. CAUCHY

PLANCHE VIII

FIG. 1.

Follicule plumeux — Zone épidermique extérieure à la gaine kératinisée — Cellule dont le noyau comporte des particules de type Herpès — Cytoplasme avec particules grossièrement polyédriques enrobées dans une enclave amorphe complète (A) ou en formation (B) — Genèse de la substance amorphe dans l'ergastoplasme dilaté (flèche) — Diamètre des particules voisins de 90 nm. *Voir Nota.*

FIG. 2.

Follicule plumeux — Zone épidermique extérieure à la gaine kératinisée — Cytoplasme avec particules enrobées dans un grain de substance amorphe : l'un deux (flèche) avec un nucléoïde polyédrique entouré d'un halo clair — Ce grain est bordé par une membrane — Diamètre des particules voisin de 85 nm. *Voir Nota.*

FIG. 3.

Follicule plumeux — Zone épidermique extérieure à la gaine kératinisée — Autre particule cytoplasmique entourée d'une zone pariétale bordée d'un halo clair (flèche) — Diamètre de cette particule : 92 nm. *Voir Nota.*

FIG. 4.

Follicule plumeux — Zone épidermique extérieure à la gaine kératinisée — Particule enrobée dans le cytoplasme — Diamètre de la particule : 110 nm — La particule semble entourée d'une paroi — Le grain amorphe est bordé d'une membrane (flèche) — Diamètre du grain : 215 nm. *Voir Nota.*

FIG. 5.

Follicule plumeux — Zone épidermique extérieure à la gaine kératinisée — Particules enrobées au sein d'une inclusion cytoplasmique amorphe (Am) — Particule à contour hexagonal (flèche) — Autre particule entourée d'une zone grise (paroi ?) — Diamètre des particules : 96 nm — Diamètre des grains : 215 nm. *Voir Nota.*

FIG. 6.

Follicule plumeux — Zone extérieure à la gaine kératinisée — Particule libre dans l'espace compris entre l'épiderme et la zone kératinisée (K) — Grain amorphe bordé de membrane — Particule à contour hexagonal et à zone interne plus opaque — Diamètre de la particule : 96 nm — Diamètre du grain : 225 nm. *Voir Nota.*

Nota : Toutes ces images proviennent du poulet n° 19 432 — Exp. : 03 — Sacrifié au 35e jour — Fix. : glutaraldéhyde et acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 100 nm.

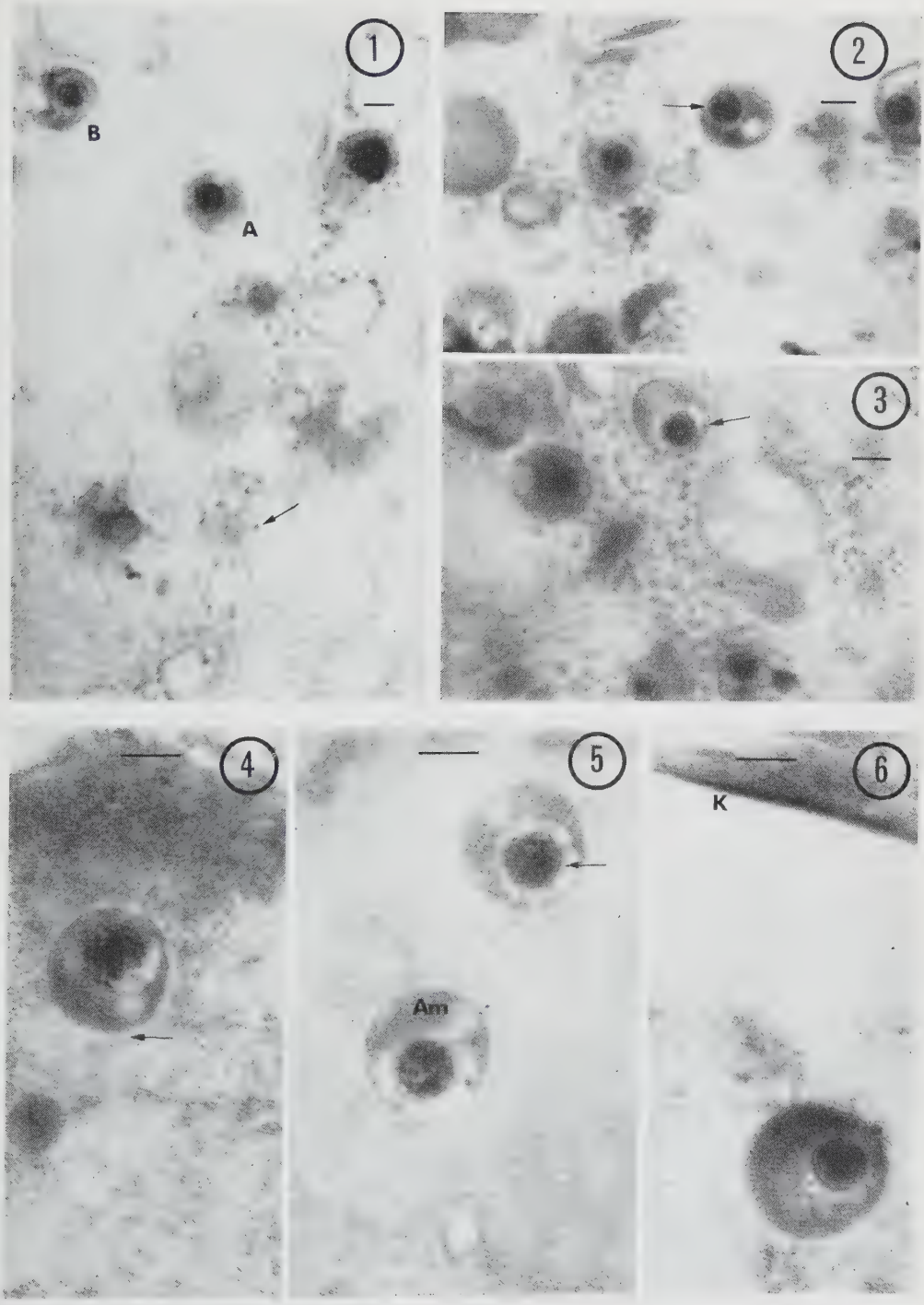

1
B
A
2
3
4
5
Am
6
K

PLANCHE IX

Fig. 1.

Bourse de Fabricius — Zone interfolliculaire — Particules virales alignées dans un espace intercellulaire — En bas, noyau de la première couche folliculaire (N) — Poulet n° 19 623 — Exp. : 904 — Sacrifié au 20e jour — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Hitachi. Barre = 1 micron.

Fig. 2.

Bourse de Fabricius — Zone interfolliculaire — Particules virales dans l'endothélium capillaire — En haut, érythrocyte (E) — Particules (flèches) — Poulet n° 19 623 — Exp. : 904 — Sacrifié au 20e jour — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Hitachi. Barre : 100 nm.

Fig. 3.

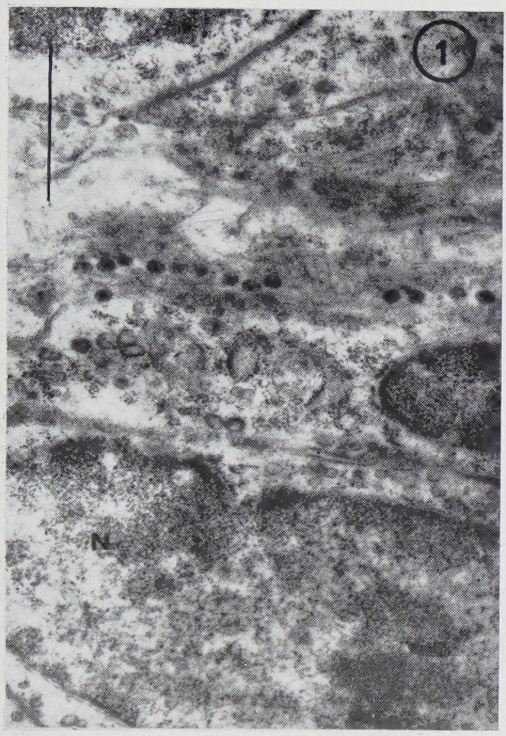
Bourse de Fabricius — Zone interfolliculaire — Particules virales arrondies à petit nucléoïde condensé et 1 ou 2 coques externes. Poulet n° 19 623 – Exp. : 904 — Sacrifié au 20e jour — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Hitachi — Barre = 100 nm.

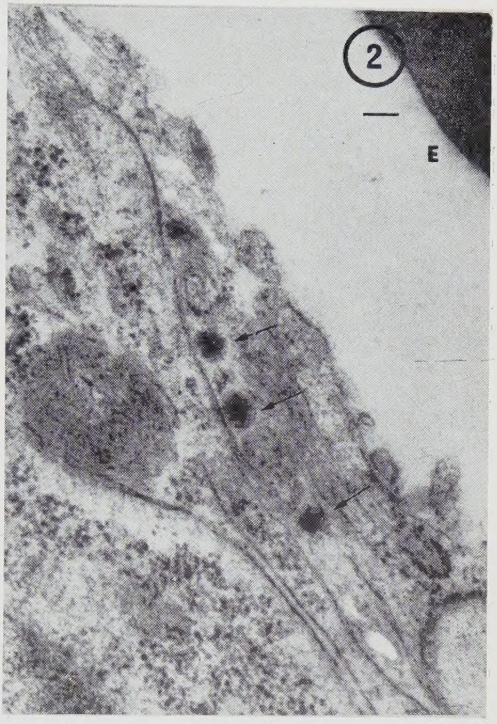
Fig. 4.

Bourse de Fabricius de poulet malade — Zone de nécrose folliculaire — Particules virales incluses dans une vacuole — Poulet n° 19 819 — Exp. : 909 — Sacrifié au 49e jour — Fix. : acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Philips. Barre = 100 nm.

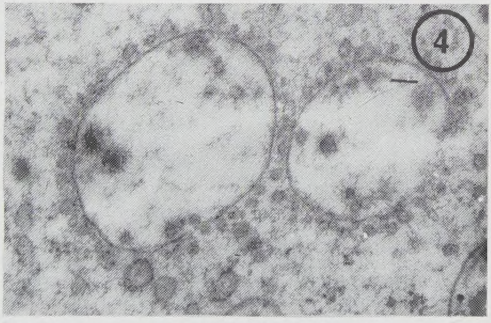
Fig. 5.

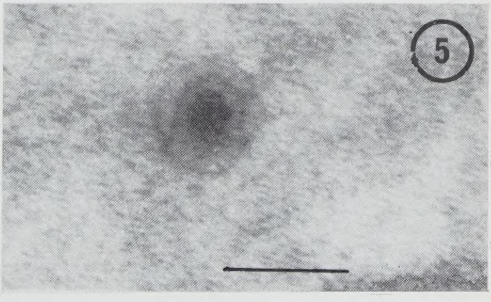
Bourse de Fabricius — Zone interfolliculaire — Particule virale isolée avec nucléoïde de petite taille : 33 nm — Deux enveloppes sont visibles — Diamètre de l'enveloppe externe : 90 nm. — Poulet n° 19 623 — Exp. : 904 — Sacrifié au 20e jour — Fix. — acide osmique — Inclusion : épon — Col. : acide d'uranyle — Photo. : Hitachi. Barre = 100 nm.


1
N


2
E

3


4


5